

INTERFERÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM PARÂMETROS SENSORIAIS,
BIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA:
EREBIDAE)

por

ANDREZO ADENILTON SANTOS

(Sob Orientação da Professora Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE)

RESUMO

A pesquisa objetivou: 1. Avaliar a ultraestrutura das sensilas das antenas de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae); 2. Investigar a atividade deterrente dos óleos essenciais de *Mentha spicata* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Pers., *Melaleuca alternifolia* Cheel e *Juniperus virginiana* L. sobre a oviposição de *A. argillacea*; além de utilizar a técnica de eletroantenografia para detectar os constituintes desses óleos que são percebidos pelas fêmeas e testar a sua bioatividade; 3. Avaliar os efeitos desses óleos sobre os parâmetros biológicos e reprodutivos de *A. argillacea*, e consequentes efeitos nas gônadas de machos e fêmeas. Foram identificados sete tipos de sensilas nas antenas de *A. argillacea*, sendo estas: sensilas trichodea, chaetica, auriculica, coeloconica, styloconica, basiconica e Böhm bristles. Sendo observada diferenças nas sensilas de machos e fêmeas em relação ao comprimento e diâmetro basal e nas regiões distal e proximal. Apenas o óleo de *M. spicata* mostrou atividade deterente a oviposição a *A. argillacea*. As análises eletroantenograficas revelaram que as fêmeas de *A. argillacea* responderam a três compostos do óleo essencial de *M. spicata*, sendo estes o limoneno, carvona e E-cariofileno. Nos biotestes com os três compostos, somente o limoneno provocou uma ação deterrente a oviposição, indicando que a bioatividade apresentada pelo óleo de *M. spicata* a *A.*

argillacea, pode se dá pela ação deste composto. Os óleos apresentaram toxicidade por contato tópico em lagartas de terceiro ínstar de *A. argillacea*; provocarem uma redução no peso das lagartas e pupas, na postura e viabilidade dos ovos. Além de alterar a histoquímica dos testículos, sendo que *M. alternifolia*, *J. virginiana* e *M. spicata* afetaram a sua morfologia. Os ovariolos também tiveram sua histoquímica alterada pelos óleos de *M. alternifolia*, *J. virginiana* e *L. cubeba*. Conclui-se que os óleos testados na presente pesquisa são promissores para o controle de *A. argillacea*.

PALAVRAS-CHAVE: CG-EAD, curuquerê-do-algodão, gônadas, inseticidas botânicos, limoneno, sensilas.

INTERFERENCE OF ESSENTIAL OILS IN SENSORIAL, BIOLOGICAL AND
REPRODUCTIVE PARAMETERS OF *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA:
EREBIDAE)

por

ANDREZO ADENILTON SANTOS

(Sob Orientação da Professora Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE)

ABSTRACT

The research aimed to: 1. Evaluate the ultrastructure of antenna sensilla of *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae); 2. Investigate the detergent activity of the essential oils of *Mentha spicata* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Pers., *Melaleuca alternifolia* Cheel and *Juniperus virginiana* L. on the oviposition of *A. argillacea*; besides using the technique of electroanthenographic to detect the constituents of these oils that are perceived by the females and to test their bioactivity; 3. To evaluate the effects of these oils on the biological and reproductive parameters of *A. argillacea*, and consequent effects on male and female gonads. Seven types of sensilla were identified in the antennae of *A. argillacea*, being these: sensilla trichodea, chaetica, auricillica, coeloconica, styloconica, basiconica and Böhm bristles. Differences were observed in the sensilla of males and females in relation to the length and basal diameter and in the distal and proximal regions. Only the oil of *M. spicata* showed detergent activity at oviposition to *A. argillacea*. The electroanthenographic analysis revealed that the *A. argillacea* females responded to three essential oil compounds of *M. spicata*, being limonene, carvone and E-caryophyllene. In the biotestes with the three compounds, only the limonene caused a strong action on oviposition, indicating that the bioactivity presented by the oil of *M. spicata* to *A. argillacea* can be due to the

action of this compound. The oils presented toxicity by topical contact in third instar larvae of *A. argillacea*; to cause a reduction in the weight of caterpillars and pupae, in egg laying and viability. In addition to altering the histochemistry of the testes, *M. alternifolia*, *J. virginiana* and *M. spicata* affected their morphology. Ovarioles also had their histochemistry altered by the oils of *M. alternifolia*, *J. virginiana* and *L. cubeba*. It is concluded that the oils tested in the present research are promising for the control of *A. argillacea*.

KEY WORDS: GC-EAD, cotton leafworm, gonad, botanical insecticides, limonene, sensilla.

INTERFERÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM PARÂMETROS SENSORIAIS,
BIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA:
EREBIDAE)

por

ANDREZO ADENILTON SANTOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade
Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em
Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro - 2019

INTERFERÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM PARÂMETROS SENSORIAIS,
BIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA:
EREBIDAE)

por

ANDREZO ADENILTON SANTOS

Comitê de Orientação:

Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro – UFPE

José Vargas de Oliveira – UFRPE

INTERFERÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM PARÂMETROS SENSORIAIS,
BIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA:
EREBIDAE)

por

ANDREZO ADENILTON SANTOS

Orientador: _____
Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

Examinadores: _____
Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro – UFPE

Álvaro Aguiar Coelho Teixeira – UFRPE

Glaucilane dos Santos Cruz – UFRPE

Carolina Arruda Guedes – UFRPE

Aos meus pais,
Adenilton Santos e Luzia Josina dos Santos

A minha irmã,
Airla Larissa dos Santos

Ao meu irmão,
Adriano Adenilton dos Santos

Ao meu sobrinho,
João Lucas dos Santos

Com muito amor.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dá forças para seguir em frente, por sempre abençoar e iluminar a minha jornada. Me fazendo acreditar que “ Tudo tem o seu tempo determinado, e há um tempo para todo o propósito debaixo do céu”. Eclesiastes 3:1.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola pela oportunidade de cursar o doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da pesquisa.

Ao Centro de Apoio a Pesquisa (CENAPESQ) por permitir a utilização dos equipamentos para a pesquisa.

A minha Orientadora Valeria Wanderley Teixeira, por acreditar em meu potencial, pela paciência, dedicação e confiança.

Á minha Co-orientadora a Prof^a. Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro pela receptividade e confiança, e por disponibilizar o Laboratório de Cromatografia para o desenvolvimento das pesquisas.

Ao meu Co-orientador Prof. José Vargas de Oliveira pelo apoio para ingressar no doutorado, pelos ensinamentos, amizade e profissionalismo.

Ao Professor Álvaro Aguiar Coelho Teixeira pela dedicação, ensinamentos e confiança.

Aos pesquisadores Luiz Carlos Alves e Fábio André Brayner, por toda colaboração no desenvolvimento desta pesquisa, e pelo uso da infra-estrutura do Laboratório de Inumopatologia Keiso Asami - LIKA.

Aos técnicos, Jana Sandes e Rafael Padilha pela inestimável ajuda nas análises de microscopia eletrônica de varredura.

Ao Dr. Paulo Milet-Pinheiro do Laboratório de Cromatografia da UFPE pela inestimável ajuda nos testes de eletroantenografia e ao técnico Júlio Cezar por todo o suporte.

À técnica Maria Edna Gomes Barros, do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, pela ajuda nas análises Histoquímica.

A todos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Prof. Paschoal Coelho Grossi por todo o apoio durante a curso, pela amizade e profissionalismo.

A toda equipe do Laboratório de Taxonomia de Inseto, A Prof^a. Daniele Parizotto, Paulo Duarte, Juan Sebastian, Tamara Carvalho, Carlos Frazão, Leidiane Costa, Julianderson Medeiros, Rosileudo Guedes e Rone Andrews.

À Dra. Glaucilane dos Santos Cruz, pela amizade, incentivo e por toda contribuição na elaboração da tese.

À Dra. Kamila de Andrade Dutra pela amizade e por toda contribuição na identificação dos óleos essenciais.

Prof. Douglas Barbosa por disponibilizar os óleos essenciais para a condução da presente pesquisa.

A Dra. Carolina Guedes e a Hilton Nobre, por toda contribuição no processamento das amostras para análises histológica, assim como, pela amizade.

A toda equipe do Laboratório de Fisiologia de Inseto, Maria Clara, Luan Patriota, Valeska Ático, Cristiane Thalita e Aline Cristina, por toda ajuda e momentos de descontração.

A toda equipe do Laboratório de Morfologia e Histologia animal do DMFA por todo suporte, em especial a Clovis, Ismaela, Carol e Cíntia.

A toda equipe do Laboratório de Ecologia e Controle Biológico, em especial a Anderson Machado, Lucas Arruda e Guilherme Rolim pelo suporte nos cultivos de algodão.

A Embrapa algodão pelo fornecimento da *Alabama argillacea* para o estabelecimento da criação.

Aos Amigos do Programa em Entomologia Agrícola, Erica Calvet, Antônio Almeida, Alice Sutana, Alessandra Guedes, Jhonsson Guilherme, Tâmara Leal, Francieli Santos, Cynara Moura, Mauricéa Fidelis, Elaine Cristina, Mariana Breda, Liliane Marque, Paolo Augustus, Nayara Cristina, Tayron Amaral, Rian Moraes e Elisabete Albuquerque pelos momentos de descontração e amizade.

Aos funcionários da Universidade Federal Rural de Pernambuco Marcello Medeiros, Darci Martins Correia da Silva, José Romildo Nunes, Rejane Quirino, Luís Tavares e Sr. Luíz pela competência e eficiência na prestação de serviços.

Aos meus amigos, Kleyton Danilo, Lamonier Chaves e Daniel Passos pelo companheirismo, amizade e momentos de descontração.

A todos os professores e funcionários da escola Maria Dalva, Escola Agrícola, IF- Sertão e UFAL por todo o conhecimento compartilhado e incentivo para seguir em frente nos estudos. E a todos os meus amigos que conquistei nestas instituições, por todos os momentos compartilhados e por todo o poio.

A toda minha família que sempre me apoiou na busca dos meus objetivos, me incentivando a seguir em frente, me dando todo o suporte emocional, e por sempre rezar pela minha proteção e saúde.

Enfim, a todos que de forma direta e indireta ajudaram na realização deste trabalho, aqui o meu muitíssimo obrigada!

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA.....	9
2 ULTRAESTRUTURA DAS SENSILAS DAS ANTENAS DE <i>Alabama argillacea</i> (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)	16
RESUMO	17
ABSTRACT	18
INTRODUÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODOS	20
RESULTADOS.....	22
DISCUSSÃO.....	24
AGRADECIMENTOS.....	28
LITERATURA CITADA.....	28
3 ESTUDO DE DETERRÊNCIA A OVIPOSIÇÃO E ELETROANTENOGRÁFIA DE <i>Alabama argillacea</i> (HÜBNER, 1823) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE) A ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS QUÍMICOS.....	40
RESUMO	41
ABSTRACT	42
INTRODUÇÃO	43

	MATERIAL E MÉTODOS	44
	RESULTADOS.....	49
	DISCUSSÃO.....	51
	AGRADECIMENTOS.....	54
	LITERATURA CITADA.....	55
4	TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE PARARÂMETROS BIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE <i>Alabama argillacea</i> (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)	70
	RESUMO	71
	ABSTRACT	72
	INTRODUÇÃO	73
	MATERIAL E MÉTODOS	74
	RESULTADOS.....	79
	DISCUSSÃO.....	82
	AGRADECIMENTOS.....	86
	LITERATURA CITADA.....	86
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	107

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma cultura de importância mundial, sendo cultivado em mais de 60 países (ABRAPA 2018). Esta cultura possui um autovalor comercial, pois a pluma é considerada a principal matéria prima utilizada pela indústria têxtil (Badigannavar 2010). A demanda mundial de algodão tem aumentado desde a década de 1950. Sendo que a produção mundial desta cultura foi estimada em 22,523 milhões de toneladas, colhidos em uma área de 29,418 milhões de hectares na safra 2016/2017 (ABRAPA 2018).

O Brasil é o quinto maior produtor e o quarto maior exportador de pluma de algodão no mundo, com uma área estimada em 1.143,4 mil hectares e uma produção de 1.854,9 mil toneladas de pluma na safra 2017/2018 (ABRAPA 2018, CONAB 2018). A produção brasileira de algodão se concentra principalmente na região Centro-Oeste, tendo o Estado do Mato Grosso como maior produtor do país, seguido da região Nordeste, com o Estado da Bahia como segundo maior produtor do país. Juntos, estes Estados representam cerca de 88,9% da produção nacional de algodão (IBGE 2017).

Em relação ao cultivo orgânico de algodão, tem-se verificado um aumento da produção nos últimos anos. Essa modalidade de cultivo, representa apenas 1% da produção mundial, que corresponde a cerca de 112,488 mil toneladas de pluma na safra 2016/2017. Esta produção se concentra principalmente em três países, Índia, China e Turquia que juntos, são responsáveis por 85% da produção de algodão orgânico no mundo. O Brasil é responsável por apenas 0,02% desta produção. E em termos nacionais, esse valor corresponde a 0,1% ou 22 toneladas de plumas colhidas em uma área de 160 hectares na safra 2016/2017 (ABRAPA 2017).

Assim como em outras culturas, os produtores de algodão têm enfrentado sérios problemas fitossanitários, principalmente em relação a pragas, limitado a produção em algumas regiões do Brasil (Azambuja & Degrande 2014). O algodoeiro é hospedeiro de mais de 250 espécies de insetos, ocorrendo diversas pragas-chaves que tem provocado grandes prejuízos à cultura (Miranda & Suassuna 2004, Freire 2007). Dentre as pragas mais importantes do algodão, a *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae), tem se destacado como a principal lagarta desfolhadora desta cultura, cujas perdas no Brasil variam de 21 a 35% da produtividade de pluma de algodão (Ramalho 1994, Ramalho 2014).

A. argillacea é uma praga nativa da América do Sul e Central e ocorre em quase todas as regiões produtoras de algodão, desde o Sul do Canadá ao Norte da Argentina (Carvalho 1981). Os adultos desse inseto são mariposas com cerca de 30 mm de envergadura, apresentando coloração marrom-avermelhada, com duas manchas circulares na parte central das asas anteriores. As fêmeas depositam seus ovos na face inferior das folhas, sendo que cada fêmea pode chegar a colocar em média 500 ovos dispostos separadamente (Santos 2001). Os ovos são inicialmente de coloração azul-esverdeada de formato circular e achatados, com aproximadamente 0,6 mm de diâmetro. Tornam-se verde-amarelados ou verde-escuro próximo à eclosão das lagartas (Medeiros *et al.* 2003, Almeida *et al.* 2008).

As lagartas são do tipo “mede-palmo”, apresentam coloração variando entre o verde-amarelado e o verde-escuro, com duas listras longitudinais no dorso e quatro pontos pretos na maioria dos segmentos abdominais. Possuindo cápsula cefálica de cor amarela com pontuações pretas (Bleicher 1990). Em função da densidade populacional e temperatura, as lagartas podem apresentar variações na coloração, que vai desde o verde-claro a negro-aveludado (Johnson *et al.* 1985).

A fase larval apresenta cinco ínstaes, sendo que nos dois primeiros apenas raspam o parênquima da parte ventral das folhas do ponteiro, e nos três últimos, são responsáveis pela maior parte da desfolha, alimentando-se de toda a folha (Ramalho 1994, Leonard *et al.* 1999, Santos 2001, Santos & Boiça-Júnior 2001). Segundo Johnsen (1984), o consumo médio das lagartas a 27,5 °C foi de 117,95 cm² de área foliar durante os ínstaes, sendo que 73% deste consumo se deu no ultimo ínstar. A duração média das fases do ciclo biológico de *A. argillacea* pode variar em decorrência da temperatura. Sendo que a duração do período de incubação varia de 2 a 3 dias, a fase larval de 8,54 a 14,22 dias e o período de pupa de 6,09 a 8,40 dias nas temperaturas de 30 e 25 °C respectivamente (Parra *et al.* 1984).

O controle de *A. argillacea* é feito principalmente com inseticidas sintéticos, pertencentes aos grupos dos organofosforados, avermectinas, neonicotinoides, piretróides, benzoiluréias, entre outros (AGROFIT 2018), mesmo sendo potencialmente prejudiciais para os seres humanos, inimigos naturais e o meio ambiente (Omoto 2000, Martinelli *et al.* 2003). Para reduzir esses problemas, o Manejo Integrado de Pragas (MIP) visa diminuir o uso de produtos químicos nos agroecossistemas, a partir de métodos que viabilizem a produção do algodoeiro de uma maneira sustentável. Neste intuito, tem se buscado produtos que sejam eficientes, menos prejudiciais ao ambiente e apresentam baixa toxicidade aos vertebrados; como os compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas (Vieira *et al.* 2004, Regnault-Roger *et al.* 2012, Madbouly *et al.* 2015, Preedy 2015).

Os metabólitos secundários são compostos químicos que aparentemente, não estão diretamente ligados ao crescimento e desenvolvimento da planta, mas são essenciais para a sua sobrevivência nos ecossistemas, conferindo proteção, principalmente, contra a ação de patógenos e herbívoros (Taiz & Zeiger 2006, Dewick 2009). Estes metabólitos são abundantes no ambiente, visto a diversidade de plantas catalogadas no mundo, estimada entre 350.000 a 550.000 espécies

(Simões *et al.* 2002). Uma importante categoria de metabólitos secundários são os óleos essenciais, cujos constituintes pertencem a dois grupos fitoquímicos, os terpenos e os fenilpropanoides. Os terpenos são biossintetizados a partir das rotas metabólicas do metileritritol fosfato e da rota do ácido mevalônico, enquanto que, os fenilpropanoides são biossintetizados a partir da rota do ácido chiquímico (Simões & Spitz 2004, Taiz & Zeiger 2006, Bernards 2010). Estimativas sugerem que cerca de 17.500 espécies de plantas aromáticas superiores produzem estes compostos, pertencendo as mais diversas famílias botânicas, incluindo Myrtaceae, Lauraceae, Piperaceae, Rutaceae, Lamiaceae e Cupressaceae (Rodriguez *et al.* 1984, Jacobson 1989, Setzer *et al.* 1992, Rajendran & Sriranjini 2008, Tripathi *et al.* 2009).

Estudos realizados por Jiang *et al.* (2009) mostraram que o óleo essencial de *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. quando administrado por contato tópico, apresentou toxicidade para lagartas de *Trichoplusia ni* Hubner na DL₅₀ (112,4 µg/larva). Ko *et al.* (2009) avaliando o óleo essencial desta mesma espécie, observaram efeitos repelentes e toxicidade por contato (DL₅₀ de 0,10 e 0,212 µL/larva) e fumigação (CL₅₀ 92,46 e 549,57 µL/L) para adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky e *Tribolium castaneum* (Herbst), respectivamente. Pavela (2005) relatou também ação tóxica, por contato tópico (DL₅₀ de 0,092 µL/larva), do óleo essencial de *Mentha spicata* L. em lagartas de terceiro ínstar de *Spoptera littoralis* (Boisduval). Já o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel, também apresentou toxicidade por ingestão (DL₅₀ de 0,269% do óleo), fumigação (CL₅₀ de 2,239 µL óleo/L de ar) e contato (CL₅₀ de 0,117 µL óleo/ cm² de papel filtro tratado) sobre adultos de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Benelli *et al.* 2013). Amer & Mehlhorn (2006a) trabalhando com o óleo essencial de *J. virginiana*, obtiveram mortalidade de 100% para larvas de terceiro instar de *A. aegypti* 12 horas após a aplicação de 50 ppm do óleo.

Esta ação repelente e tóxica encontrada em diversos óleos essenciais deve-se a sua constituição química, na qual apresenta uma mistura complexa de compostos voláteis, contendo

hidrocarbonetos terpênicos, aldeídos, álcoois, cetonas, éteres, fenóis, entre outros (Simões & Spitz 2004). Estes produtos são extraídos dos diversos órgãos da planta (raízes, rizomas, flores, frutos, folhas, sementes, casca e caules) a partir de diferentes métodos, como hidrodestilação e destilação por arraste de vapor (Reganult-Roger *et al.* 2012); sendo a análise dos constituintes dos óleos essenciais feita a partir de técnicas de cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), que quantifica e identifica a mistura dos componentes (Brochini & Lago 2007, Adams 2009, Rubiolo *et al.* 2010).

A identificação dos constituintes presentes em um óleo essencial é de extrema importância; já que as condições ambientais, como ritmo circadiano, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, danos por ataques de patógenos e outros, podem mudar a taxa de produção dos metabólitos secundários e a sua constituição (Gobbo-Neto & Lopes 2007). Além disso, a identificação dos constituintes pode auxiliar no entendimento de possíveis respostas sobre a ação de um óleo essencial na fisiologia do inseto. Já que os diferentes componentes presentes nos óleos essenciais podem atuar em locais e de formas distintas no corpo desses organismos (Isman 2000, Rattan 2010, Regnault-Roger *et al.* 2012, Cruz *et al.* 2017).

Fumigação, ingestão e contato são os diferentes modos de ação dos óleos e resultam em mortalidade, repelência, inibição da oviposição, reduções no desenvolvimento larval, fecundidade e fertilidade dos insetos (Martinez & Van Emden 2001, Ko *et al.* 2009, Cruz *et al.* 2014); por atuar no sistema nervoso, interferindo na transmissão normal dos impulsos nervosos; no sistema neuroendócrino, interferindo no processo de ecdise; no metabolismo respiratório, atuando na síntese de ATP e no sistema reprodutivo, interferindo nos processos de espermatogênese e oogênese (Menezes 2005, Rajendran & Sriranjini 2008, Alves *et al.* 2014, Cruz *et al.* 2015).

No caso do sistema reprodutivo dos insetos, alterações nas gônadas, podem reduzir a postura e a viabilidade dos ovos, e conseqüentemente, interferir no crescimento populacional de uma praga

(Alves *et al.* 2014, Cruz *et al.* 2015). O aparelho reprodutor feminino consiste em um par de ovários, formados por ovariolos unidos por um filamento terminal na extremidade superior, ligando o aparelho reprodutor ao corpo do inseto. Enquanto que, na extremidade inferior, os pedicelos dos ovariolos se unem ao oviduto lateral, e este, se liga ao oviduto comum que se abre na câmara genital, denominada vagina, sendo ligada ao exterior pela vulva (Chapman 1998). Nos ovariolos ocorre o processo de oogênese, produção do óvulo maduro, apto para a fecundação (Buning 1994).

Já o aparelho reprodutor masculino dos insetos é constituído, geralmente, por um par de testículos, que se ligam aos vasos deferentes a partir dos vasos eferentes. Uma porção do ducto deferente dilate-se formando uma vesícula seminal que se liga ao ducto ejaculador (Klowden 2007). Em cada testículo encontram-se os folículos testiculares, onde ocorre a espermatogênese, que é o processo de formação dos espermatozoides. Os folículos testiculares são formados por quatro regiões distintas: o germário, constituído por células germinativas primordiais; zona de crescimento, localizada após o germário com numerosos cistos de espermatogônias; zona de divisão e redução, constituída por espermátocitos primários e secundários e a zona de transformação onde se encontram espermátides em diferentes estágios de desenvolvimento e espermatozóides agrupados em feixes (Vargas 2007).

Muitos estudos têm demonstrado que os óleos essenciais ocasionam diversos efeitos no sistema reprodutivo dos insetos, alterando a morfologia e histoquímica das gônadas de machos e fêmeas, com consequentes efeitos na oviposição. Alves *et al.* (2014), mostraram que o óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) afetou de forma negativa a espermatogênese, bem como, provocou alterações na histoquímica dos ovariolos de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). Cruz *et al.* (2015) relataram alterações na histologia e histoquímica das gônadas de *S. frugiperda*, resultando na redução da oviposição quando utilizado o óleo essencial de cravo da Índia [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry]. A redução da oviposição de *S.*

frugiperda, também foi observada para os óleos essenciais de *Eucalyptus staigeriana* F., *Ocimum gratissimum* L., e *Foeniculum vulgare* Mill (Cruz *et al.* 2016).

Os óleos essenciais também podem apresentar efeitos no comportamento dos insetos, podendo causar repelência para algumas espécies (Amer & Mehlhorn 2006b, Zapata *et al.* 2010, Nerio *et al.* 2014, Zhang *et al.* 2017). Estes organismos possuem um eficiente mecanismo de percepção e identificação, respondendo de maneira seletiva aos diferentes odores presentes no ambiente. As antenas dos insetos são órgãos especializados na captação de estímulos olfativos e mecânicos, por possuírem receptores denominados de sensilas, que são responsáveis por captar os estímulos e direcioná-los ao sistema nervoso central, no qual, incita e controla os comportamentos apropriados, tais como movimentação, alimentação, acasalamento e postura do inseto (Gullan & Cranston 2012, Marques 2012).

As sensilas são estruturas básicas de percepção, formadas por neurônios, células tecogênica, tricogênica, tormogênica e estruturas cuticulares (Keil 1997) e variam morfológicamente, sendo classificadas como trichodea, chaetica, coeloconica, basiconica, Böhm bristles, auricillica, styloconica, ampullacea, placodea, squamiformia, campaniformia, e sensila scolopalia (Schneider 1964). Cada tipo de sensila pode ser responsável por uma ou mais funções, sejam mecanorreceptoras, quimiorreceptoras, higrorreceptoras, termorreceptoras cuticulares e receptoras de CO₂ (Chapman 1998, Stange & Stowe 1999).

As sensilas quimiorreceptoras possuem poros na cutícula que permitem a entrada de moléculas de odores para o seu interior. Essas moléculas quando atingem a linfa sensilar, ligam-se a proteínas específicas presentes nesta linfa, denominadas de OBPs (Odor Binding Proteins). As OBPs transportam as moléculas de odores até os seus receptores, presentes na membrana dos dendritos, evitando assim que estas moléculas sejam degradadas antes de atingir seu sítio de ligação (Moraes *et al.* 2008, Li *et al.* 2016). Ao se ligar ao seu receptor, ocorre uma despolarização da

membrana neural, gerando um impulso nervoso. Esse impulso pode ser percebido através de um detector eletroantegráfico (EAD), que mede a resposta total das células receptoras da antena do inseto, aos estímulos particulares. Os registros podem ser feitos utilizando-se tanto a antena extirpada quanto ligada a uma cabeça isolada ou ao inseto inteiro (Gullan & Cranston 2012, Cribb & Merritt 2013).

No EAD a extremidade da antena do inseto é ligada a eletrodos que medem a diferença de tensão gerada pelo movimento de íons através da membrana neuronal. Cada célula receptora de odores na antena funciona como um conjunto de resistência e uma fonte de tensão. Quando a antena é colocada entre os dois eletrodos e a substância química é liberada, ocorre uma despolarização da membrana neural e a tensão entre os dois eletrodos é alterada. O sinal é amplificado e enviado através de uma placa conversora analógica/digital para o computador. Quando o EAD é acoplado a um cromatógrafo gasoso (CG-EAD) é possível detectar através das frações e soluções da amostra, os componentes responsáveis pela resposta na antena do inseto (Moraes *et al.* 2008). Neste caso, a amostra injetada irá percorrer toda a coluna para que ocorra a separação dos componentes da mistura. Ao final da corrida, o fluxo da coluna é dividido em duas partes: uma é conduzida ao detector de ionização de chama (FID) e, conseqüentemente, o cromatograma é traçado, e a outra parte vai para o EAD, onde a resposta da antena do inseto é amplificada e registrada, gerando um eletroantegráfico. Em decorrência de ambos serem simultâneos, é possível saber se o composto registrado é bioativo ou não (Zarbin *et al.* 1999).

A eletroantegráfica tem possibilitado a descoberta de vários feromônios de insetos. Assim como, tem auxiliado nas pesquisas que envolvem as respostas desses organismos aos constituintes dos óleos essenciais; como os resultados apresentados por Campbell *et al.* (2011), nos quais mostraram que as antenas de *A. aegypti* responderam a 42 componentes de óleos essenciais, sendo alguns destes já relatados como repentes a insetos. Silva *et al.* (2015) trabalhando com esta mesma

espécie de inseto, mostraram através das análises de eletroantenografia e de testes comportamentais que a deterrência a oviposição ocasionada pelo óleo de *Commiphora leptophloeos* a *A. aegypti* está relacionado com a presença dos compostos (E)-cariofileno e α -humuleno em sua constituição.

Plantas com significativo efeito repelente tem sido apontada como uma forma muito eficiente de evitar a infestação de pragas em áreas agrícolas; reduzindo a postura e injúrias, e conseqüentemente, as perdas na produtividade, com benefícios econômicos para os agricultores (Andrade *et al.* 2013). Neste caso, a identificação dos compostos bioativos em óleos essenciais pode ser de grande valia para obtenção de produtos com esse tipo de ação.

Trabalhos envolvendo o uso de óleos essenciais no controle de *A. argillacea* são escassos, necessitando, portanto, explorar o potencial que estes produtos podem apresentar para o seu controle. Assim, o presente trabalho teve os seguintes objetivos: Avaliar a ultraestrutura das sensilas das antenas de *A. argillacea*; 2. Investigar a atividade deterrente dos óleos essenciais de *M. spicata*, *L. cubeba*, *M. alternifolia* e *J. virginiana* sobre a oviposição de *A. argillacea*; além de utilizar a técnica de eletroantenografia para detectar os constituintes desses óleos que são percebidos pelas fêmeas e testar a sua bioatividade; 3. Avaliar os efeitos desses óleos sobre os parâmetros biológicos e reprodutivos de *A. argillacea*, e conseqüentes efeitos nas gônadas de machos e fêmeas.

Literatura Citada

ABRAPA. 2017. Algodão orgânico no Brasil e no mundo verso o bicudo-do-algodoeiro. Disponível em https://www.bbmnet.com.br/upload/files/Manejo_organico_Combate_ao_bicudo_ABRAPA.PDF> Acesso em 20 de março de 2018.

ABRAPA. 2018. Dados. Disponível em ><https://www.abrapa.com.br/Paginas/atualizacao.aspx>> Acesso em 23 de março de 2018.

Adams, R.P. 2009. Identification of essential oil components by gas chromatography quadropole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation. Carol Stream, Illinois, 804p.

- AGROFIT. 2018.** Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 01 de maio de 2018.
- Almeida, R.P., C.A.D. Silva & F.S. Ramalho. 2008.** Manejo integrado de pragas do algodão, p. 1034-1098. In: N.E.M. Beltrão & D.M.P. Azevedo (eds.), O Agronegócio do algodão no Brasil, 2º ed. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 742 p.
- Alves, T.J.S., G.S. Cruz, V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, J.V. Oliveira, A.A. Correia, C.A.G. Câmara & F.M. Cunha. 2014.** Effects of *Piper hispidinervum* on spermatogenesis and histochemistry of ovarioles of *Spodoptera frugiperda*. Biotech. & Histochem. 88: 1-11.
- Amer A. & H. Mehlhorn. 2006a.** Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*. Parasitol. Res. 99: 466-472.
- Amer A. & H. Mehlhorn. 2006b.** Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. Parasitol. Res. 99: 478-490.
- Andrade, L.H., Oliveira, J.V., Lima, I.M.M., Santana, M.F., & Breda, M.O. 2013.** Efeito repelente de azadiractina e óleos essenciais sobre *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em algodoeiro. Rev. Ciênc. Agron. 44: 628-634.
- Azambuja R. & P.E. Degrande. 2014.** Trinta anos do bicudo-do-algodoeiro no Brasil. Arq. Inst. Biol. 81: 377-410.
- Badigannavar, A. 2010.** Characterization of quantitative traits using association genetics in tetraploid and genetic linkage mapping in diploid cotton (*Gossypium* spp.). Louisiana, 153 p. Dissertation- Faculty of the Louisiana State University.
- Benelli G., A. Canale, G. Flamini, P.L. Cioni, F. Demi, L. Ceccarini, M. Macchia & B. Contia. 2013.** Biototoxicity of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) essential oil against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and its parasitoid *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae). Ind Crops Prod. 50: 596-603.
- Bernards, M.A. 2010.** Plant natural products: a primer. Can. J. Zool. 88: 601-14.
- Bleicher, E. 1990.** Manejo integrado de pragas do algodoeiro, p. 271-291. In: W.B. Crocromo (ed.), Manejo integrado de pragas. Botucatu: FEAPAF, 358p.
- Brochini, C. B. & J.H.G. Lago. 2007.** Aplicação de técnicas cromatográficas e espectrométricas como ferramentas de auxílio na identificação de componentes de óleos voláteis. Rev. Bras. Farmacog. 17: 266-270.
- Buning, J. 1994.** The insect ovary: Ultrastructure, previtellogenic growth and evolution. Chapman & Hall, Weinheim, 400p.

- Campbell, C., R. Gries & R. Gries. 2011.** Forty two compounds in eleven essential oils elicit antennal responses from *Aedes aegypti*. Entomol. Exp. Appl. 138: 21-32.
- Carvalho, S.M. 1981.** Biologia e nutrição de *Alabama argillacea* (Huebner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) em três cultivares de algodoeiro. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. (Monografia).
- Chapman, R.F. 1998.** The Insects: structure and function, 4^o ed. Cambridge, Cambridge University Press, 788p.
- CONAB. 2018.** Acompanhamento da safra brasileira de grãos. V: 5, Safra 2017/18, n: 6 – sexto levantamento.
- Cribb, B.W. & D.J. Merritt. 2013.** Chemoreception, p. 771-792. In S.J. Simpson & A.E. Douglas (eds.). The Insects: structure and function, 5^o ed. Cambridge, Cambridge University Press, 929p.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, A.A. Correia, M.O. Breda, T.J.S. Alves, F.M. Cunha, A.A.C. Teixeira, K.A. Dutra & D.M.A.F. Navarro. 2014.** Bioactivity of *Piper hispidinervum* (Piperales: Piperaceae) and *Syzygium aromaticum* (Myrtales: Myrtaceae) oils, with or without formulated Bta on the biology and immunology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 107:144-153.
- Cruz, G.S., C.W. Teixeira, J.V. Oliveira, A.A.C.T. Teixeira, A.C. Araújo, T.J.S. Alves, F.M. Cunha, M. O. Breda. 2015.** Histological and histochemical changes by clove essential oil upon the gonads of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Int. J. Morphol. 33:1393-1400.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, F.S.C. Lopes, D.R.S. Barbosa, M.O. Breda, K.A. Dutra, C.A. Guedes, D.M.A. F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2016.** Sublethal effects of essential oils from *Eucalyptus staigeriana* (Myrtales: Myrtaceae), *Ocimum gratissimum* (Lamiales: Lamiaceae), and *Foeniculum vulgare* (Apiales: Apiaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 109: 660-666.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, C.G. D'assunção, F.M. Cunha, A.A.C. Teixeira, C.A. Guedes, K.A. Dutra, D.R.S. Barbosa, M.O. Breda. 2017.** Effect of trans-anethole, limonene and your combination in nutritional componentes and their reflection on reproductive parameters and testicular apoptosis in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Chem. Biol. Interact. 263: 74-80.
- Dewick, P.M. 2009.** Medicinal natural products: a biosynthetic approach, 3^o ed. John Wiley & Sons Ltd, 539p.
- IBGE. 2017.** Levantamento sistemático da produção agrícola. Levant. Sistem. Prod. Agríc. 30: 1-82.

- Isman, M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop. Protec.* 19: 603-608.
- Freire, E.C. 2007.** História do algodão no cerrado, p. 21-52. In E.C. Freire (ed.), *Algodão no cerrado do Brasil*. Brasília, ABRAPA, 918p.
- Gobbo-Neto, L. & N.P. Lopes. 2007.** Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova* 30: 374-381.
- Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2012.** Os insetos: um resumo de entomologia. São Paulo, Roca editora, 440p.
- Jacobson, M. 1989.** Botanical pesticides: past, present and future, p. 69-77. In J.T. Arnason, B.J.R. Philogène & P. Morand (eds.), *Insecticide of plant origin*. Washington, American Chemical Society, 213p.
- Jiang, Z., Y. Akhtar, R. Bradbury, X. Zhang & M.B. Isman 2009.** Comparative toxicity of essential oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and blends of their major constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *J. Agric. Food Chem.* 57: 4833-4837.
- Johnsen, S.J. 1984.** Larval development, consumption, and feeding behavior of the cotton leaf worm, *Alabama argillaceae* (Huebner). *South. Entomol.* 9: 1-9.
- Johnson, S. J., L.D. Foil, A.M. Hammond, T.C. Sparks & G.E. Church. 1985.** Effects of environmental factors on phase variation in larval cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Hübner). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78: 35-40.
- Keil, T.A. 1997.** Functional morphology of insect mechanoreceptors. *Microsc. Res. Tech.* 39: 506-531.
- Klowden M.J. 2007.** Physiological systems in insects, 2º ed. New York: Academic Press. 688p.
- Ko, K., W. Juntarajumnong & A. Chandrapatya. 2009.** Repellency, Fumigant and Contact Toxicities of *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon Against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 43: 56-63.
- Leonard, B.R., J.B. Graves & P.C. Ellsworth. 1999.** Insect and mite pests of cotton, p. 491-493. In C.W Smith & J.T. Cothren (eds.). *Cotton: origin, history, technology and production*. New York, John Wiley & Sons, 864p.
- Li, G., X. Chen, B. Li, G. Zhang, Y. Li & J. Wu. 2016.** Binding properties of general odorant binding proteins from the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae). *Plos One* 11: e0155096.
- Parra, J.R.P., S. Silveira Neto, P. Kasten Junior & O. Brunini. 1984.** Bioecologia de *Alabama argillacea*: evolução populacional em seis regiões do Estado de São Paulo, com base em suas exigências térmicas. *Pesqu. Agropec. Bras.* 19: 417-421.

- Pavela, R., 2005.** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia* 76: 691-696.
- Preedy, V.R. 2015.** Essential oil in food preservation, flavour and safety, 1º ed. London: Academic Press, 862p.
- Madbouly, S.A., C. Zhang & M. R. Kessler. 2015.** Bio-based plant oil polymers and composites. Elsevier Inc., Oxford, UK, 213p.
- Marques M.D. 2012.** Anatomia interna e fisiologia, p. 33-80. In J.A. Rafael, G.A.R. Melo, C.J.B. Carvalho, S.A. Casari & R. Constantino (eds.), *Insetos do Brasil: Diversidade e taxonomia*. Ribeirão Preto: Holos, 810p.
- Martinelli, S., M.A. Montagna, N.C. Picinato, F.M.A. Silva & O.A. Fernandes. 2003.** Eficácia do indoxacarb para o controle de pragas em hortaliças. *Hortic. Bras.* 21: 501-505.
- Martinez, S.S. & H.F. Van Emden. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. *Neotrop. Entomol.* 30: 113-124.
- Medeiros, R.S., F.S. Ramalho, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão. 2003.** Estimate of *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) development with nonlinear models. *Braz. J. Biol.* 63: 589-598.
- Menezes, E.L.A. 2005.** Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Embrapa Agrobiologia, 58p.
- Miranda, J.E. & Suassuna, N.D. 2004.** Guia de identificação e controle das principais pragas e doenças do algodoeiro. Goiânia, Fundação Goiás, 83p.
- Moraes M., R. Laumann, D. Paula, M. Pareja, C. Silva, H. Vieira, J.M. Naime & M. Borges. 2008.** Eletroantenografia: a antena do inseto como um biossensor. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 22p. (Circular Técnico 270).
- Nerio, L.S., J. Olivero-Verbel & E. Stashenko. 2010.** Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresour. Technol.* 101: 372-378.
- Omoto, C. 2000.** Modo de ação de inseticidas e resistência de insetos a inseticidas, p. 31-50. In J.C. Guedes Costa, I.D. & E. Castiglioni (eds.). *Bases e técnicas do manejo de insetos*. Santa Maria, UFSM, 248p.
- Rajendran S. & V. SriranjiniJ. 2008.** Plant products as fumigants for stored-product insect control. *J. Stored Prod. Res.* 44: 126-135.
- Ramalho, F.S. 1994.** Cotton pest management: Part 4. A Brazilian perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 563-578.

- Ramalho, F.S., J.K.S. Pachú, A.C.S. Lira, J.B. Malaquias, J.C. Zanuncio & F.S. Fernandes. 2014.** Feeding and dispersal behavior of the cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on Bt and Non-Bt cotton: Implications for evolution and resistance management. Plos One 9: e111588.
- Rattan, R.S. 2010.** Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. Crop Prot. 29: 913-920.
- Regnault-Roger, C., C. Vincent & J.T. Arnason. 2012.** Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. Annu. Rev. Entomol. 57: 405-424.
- Rodriguez, E., P.L. Healey & I. Mehla. 1984.** Biology and chemistry of plant trichomes. New York: Plenum, 255p.
- Rubiolo P, B. Sgorbini, E. Liberto, C. Cordero & C. Bicchi. 2010.** Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. Flavour Fragr. J. 25: 282-90.
- Santos, T.M. & A.L. Boiça Júnior. 2001.** Resistance of cotton genotypes (*Gossypium hirsutum* L.) to *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop. Entomol. 30: 297-303.
- Santos, W.J. 2001.** Identificação, biologia, amostragem e controle das pragas do algodoeiro, p. 133-174. In Embrapa Agropecuária Oeste/Embrapa Algodão, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. 296p.
- Setzer W.N., K.W. Whitaker & R.O. Lawton. 1992.** A chemical ecological study of the components of the essential oil of eastern red cedar (*Juniperus virginiana*) from three habitats in Huntsville, Alabama. Castanea 57: 209-213.
- Schneider, D., 1964.** Insect antennae. Annu. Rev. Entomol. 9, 103-122.
- Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosmann & J.C.P. Mello. 2002.** Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre, Ed. Universidade, 1104p.
- Simões, C.M.O. & V. Spitz. 2004.** Óleos voláteis, p. 467-495. In C.M.O. Simões, E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick (eds.), Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre, Editora da universidade/UFSC, 1104p.
- Silva, R.C.S., P. Milet-Pinheiro, P.C.B. Silva, A.G. Silva, M.V. Silva, D.M.A.F. Navarro & N.H. Silva. 2015.** (*E*)-Caryophyllene and α -Humulene: *Aedes aegypti* oviposition deterrents elucidated by gas chromatography-electrophysiological assay of *Commiphora leptophloeos* leaf oil. Plos One 10: e0144586.
- Stange, G. & S. Stowe. 1999.** Carbon-dioxide sensing structures in terrestrial arthropods. Microsc. Res. Tech. 47: 416-427.

- Vargas, P.S.R. 2007.** Modificações do aparelho reprodutor de *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) após exposição a deltametrina. Dissertação de Mestrado, UFV, Viçosa, 63p.
- Vieira, P.C., J.B. Fernandes & C.C. Andrei. 2004.** Plantas inseticidas. In C.M.O Simões, E. P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick (eds.), Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre, UFSC, 1102p.
- Taiz, L. & E. Zeiger. 2006.** Fisiologia vegetal, 3.ed. Porto Alegre, Artmed, 722p.
- Tripathi, A.K., S. Upadhyay, M. Bhuiyan & P. R. Bhattacharya. 2009.** A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. J. Pharmacognosy Phytother. 1: 052-064.
- Zarbin P.H.G. 1999.** Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. Quím. Nova 22: 263-268.
- Zapata, N. & G. Smagghe. 2010.** Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneu*. Ind. Crops Prod. 32: 405-410.
- Zhang Z., S. Guo, W. Zhang, Z. Geng, J. Liang, S. Du, C. Wang & Z. Deng. 2017.** Essential oil and polyacetylenes from *Artemisia ordosica* and their bioactivities against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). Ind. Crops Prod. 100: 132-137.

CAPÍTULO 2

ULTRAESTRUTURA DAS SENSILAS DAS ANTENAS DE *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)¹

ANDREZO A. SANTOS², VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA^{2,3}, GLAUCILANE S. CRUZ², DANIELA
M.A.F. NAVARRO⁴, LUIZ C. ALVES⁵, FÁBIO A. BRAYNER⁵, ÁLVARO A.C. TEIXEIRA³

²Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

⁴Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE.

⁵Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco (LIKA-UFPE), Av. Moraes Rego, s/n, 50670-420, Recife, PE.

¹Santos, A.A., V. Wanderley-Teixeira, G.S. Cruz, D.M.A.F. Navarro, L.C. Alves, F.A. Brayner & Á.A.C. Teixeira. Ultraestrutura das sensilas das antenas de *Alabama argillacea* (Lepidoptera: Erebidae). Revista Brasileira de Entomologia 63: 141–148.

RESUMO - Os insetos possuem diversos tipos de sensilas e a sua identificação tem sido fundamental, para uma maior compreensão de como os mecanismos de percepção funcionam nas diferentes espécies. Neste intuito, o presente trabalho buscou descrever a ultraestrutura das sensilas presentes nas antenas, bem como, possíveis variações entre os sexos de *Alabama argillacea* (Huebner) (Lepidoptera: Noctuidae), uma importante praga da cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), nativa da América do Sul e Central. Para isso, analisou-se as antenas de machos e fêmeas de *A. argillacea* através de microscopia eletrônica de varredura. A morfometria das sensilas foi feita a partir das micrografias, medindo o comprimento, diâmetro basal e apical das sensilas, utilizando o programa ImageJ. Foram identificados sete tipos de sensilas nas antenas de *A. argillacea*, sendo estas: sensilas trichodea, chaetica, auricillica, coeloconica, styloconica, basiconica e Böhm bristles. Foi observado diferença nas sensilas de machos e fêmeas em relação ao comprimento e diâmetro basal e nas regiões distal e proximal. Isto sugere que a funcionalidade dessas sensilas pode variar não apenas de uma espécie para outra, mas dentro da mesma espécie quando comparada entre macho e fêmea. Assim, estudos de microscopia eletrônica de transmissão e eletrofisiologia das sensilas, podem fornecer maiores detalhes das sensilas e suas funcionalidades em *A. argillacea*.

PALAVRAS-CHAVE: Antena, curuquerê-do-algodoeiro, morfometria, microscopia eletrônica de varredura

ULTRASTRUCTURE OF THE ANTENNAL SENSILLA OF *Alabama argillacea* (HÜBNER)

(LEPIDOPTERA: EREBIDAE)

ABSTRACT – Insects have several types of sensilla, the characterization of which has been fundamental to understanding the mechanisms of sensory perception in different species. This study aimed to describe the ultrastructure of the sensilla present on the antennae of *Alabama argillacea* (Hübner, 1823) (Lepidoptera: Erebidae), an important pest of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) crops, as well as their possible variation between sexes. To do this, the antennae of males and females of *A. argillacea* were analyzed using scanning electron microscopy. Sensilla morphometry was assessed using photomicrographs, from which the lengths and basal and apical diameters of sensilla were measured using the ImageJ program. Seven types of sensilla were identified on the antennae of *A. argillacea*: sensilla trichodea, sensilla chaetica, sensilla auriculica, sensilla coeloconica, sensilla styloconica, sensilla basiconica, and Böhm bristles. Differences between the sensilla of males and females were found in their lengths and basal diameter in the distal and proximal regions. This suggests that sensilla functionality may not only vary from one species to another, but also between sexes within the same species. Thus, further transmission electron microscopy and sensilla electrophysiology studies may provide more detailed information on the sensilla of *A. argillacea* and their functions.

KEY WORDS: Antenna; cotton leafworm; morphometry; scanning electron microscopy.

Introdução

Ao longo da história evolutiva, os insetos desenvolveram uma grande capacidade de percepção do ambiente, apresentando uma alta sensibilidade a variações climáticas, estímulos mecânicos e químicos. O sucesso dessa adaptação está relacionado a estruturas sensoriais presentes no seu corpo, denominadas sensilas (Altner *et al.* 1983, Cossé *et al.* 1998, Krishnan 2012, Wee *et al.* 2016). As sensilas são estruturas básicas de percepção, formadas por neurônios, células tecogênica, tricogênica, tomogênica e estruturas cuticulares (Keil 1997). Sendo esta última, a principal base para classificação dos diversos tipos de sensilas presentes nos insetos (Zacharuk 1980).

As sensilas variam morfologicamente, sendo classificadas como trichodea, chaetica, coeloconica, basiconca, Böhm bristles, auricillica, styloconica entre outras (Schneider 1964). Cada tipo de sensila pode ser responsável por uma ou mais funções, seja mecanorreceptoras, quimiorreceptoras, higrorreceptoras, termorreceptoras e receptoras de CO₂ (Chapman 1998, Stange & Stowe 1999). Elas funcionam como uma interface entre o meio externo e interno dos insetos, captando os diferentes estímulos do ambiente, e direcionando-os para o sistema nervoso central, desencadeando respostas comportamentais específicas, tais como: seleção de um hospedeiro para alimentação e oviposição, através da captação de voláteis de plantas ou ir de encontro ao parceiro para a realização da cópula, mediante percepção do feromônio sexual (Schneider, 1964, Cossé *et al.* 1998, Smith 2007, Park *et al.* 2013, Wee *et al.* 2016).

Os tipos de sensilas presentes em uma antena podem variar de uma espécie para outra, bem como pode ocorrer uma diferenciação dentro da espécie, apresentando um dimorfismo sexual (Castrejón-Gómez *et al.* 1999, Sukontason *et al.* 2007, Ravaiano *et al.* 2014, Ren *et al.* 2014). Além disso, o número de sensilas podem variar em decorrência de pressão de seleção, sendo que o

tamanho, sexo e os hábitos alimentares dos insetos são de importância considerável nessa variação (Chapman 1982).

Diversos estudos têm sido realizados para compreender melhor, como os insetos percebem o ambiente e, qual a função que cada tipo de sensila exerce nesta percepção. Neste caso, a caracterização morfológica e fisiológica destas sensilas, tem sido fundamental nessa busca. Como já vem sendo feito para algumas espécies da Ordem Diptera (Hempolchom *et al.* 2017, Pezzi *et al.* 2018), Hymenoptera (Zhang *et al.* 2015, Zhou *et al.* 2015) e Coleoptera (Ren *et al.* 2014, Vera & Bergmann 2018). Assim como para espécies de Lepidópteros consideradas importantes pragas agrícolas como *Plutella xylostella* L. (Yan *et al.* 2017), *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Diongue *et al.* 2013) e *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Seada 2015). Essa caracterização das sensilas, pode ajudar a compreender futuros estudos, envolvendo as respostas fisiológicas relacionadas a compostos químicos de plantas, com efeitos repelente, atrativo, entre outras funções. Assim como, compreender as respostas relacionada à detecção de feromônios sexuais.

Neste contexto, o presente trabalho buscou avaliar a ultraestrutura das sensilas das antenas de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebididae), uma importante praga da cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), considerada a principal lagarta desfolhadora desta cultura, cujas perdas no Brasil variam de 21 a 35% da produtividade de pluma de algodão (Ramalho 1994, Miranda e Oliveira 2006, Ramalho 2014). Para isso, analisou-se as antenas de machos e fêmeas de *A. argillacea* através de microscopia eletrônica de varredura (MEV); como forma de descrever as sensilas presentes nas antenas, bem como, possíveis variações entre os sexos.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Fisiologia de Insetos do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal/DMFA, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE),

e no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco (LIKA-UFPE).

Criação de *Alabama argillacea*. Os insetos foram obtidos da criação estoque do Laboratório de Fisiologia de Insetos. Estes foram mantidos à temperatura de $25,2 \pm 1,4$ °C, umidade relativa de $67 \pm 0,7$ % e fotofase de 12 h. As lagartas foram alimentadas diariamente com folhas de algodão cultivar BRS safira. Os adultos mantidos em gaiola de PVC, com dimensões de 15 cm de diâmetro por 20 cm de comprimento, revestidas internamente com papel sulfite, como substrato para oviposição. A alimentação dos adultos foi feita com solução de mel a 10 % e uma mistura de levedura e mel na proporção de 1:1.

Análises em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Antenas de cinco machos e cinco fêmeas com 48 horas de idade foram pré-fixados em tampão Karnovsky (G.A. 2,5%, PFA 4%). Posteriormente foram realizadas três lavagens, em tampão cacodilato 0,1 M, pH 7,4, durante 10 min cada. Em seguida pós-fixados em 1% de tetróxido de ósmio (OsO_4) por uma hora, na ausência de luz. Os próximos passos incluíram, uma lavagem em tampão cacodilato 0,1M, pH 7,4 e duas lavagens em água destilada, durante 10 min cada. As amostras foram então submetidas a triplas desidratações em séries crescentes de etanol (30, 50, 70, 90 e 100) por 15 minutos cada e submetidas à secagem pelo método do ponto crítico, usando CO_2 líquido. Posteriormente montadas em stubs, metalizadas com ouro coloidal durante um minuto e analisadas ao microscópio JEOL-5600LV.

As terminologias utilizadas para classificação das sensilas de *A. argillacea* foram baseadas em Schneider (1964), Chang *et al.* (2015) e Seada (2015). Analisou-se as sensilas da região proximal, considerando do 10^o ao 15^o antenômero a partir da base da antena, e da região distal, considerando 10^o ao 15^o a partir da extremidade apical da antena.

Estatística. Foram mensurados o comprimento e o diâmetro basal e apical das sensilas das antenas de *A. argillacea*, a partir das micrografias obtidas pelo MEV, utilizando o programa ImageJ. As

diferenças de tamanho das sensilas entre machos e fêmeas e entre as regiões proximais e distais de cada sexo foram submetidas ao teste t de Student, utilizando o programa SAS (SAS Institute 2002).

Resultados

De acordo com a morfologia, foram identificados sete tipos de sensilas nas antenas dos machos e fêmeas de *A. argillacea*, sendo estas: trichodea, chaetica, auricillica, caeloconica, styloconica, basiconica e Böhm bristles.

Descrição Morfológica e Morfométrica das Sensilas das Antenas de *Alabama argillacea*

A sensila trichodea (s. trichodea) foi visivelmente mais abundante nas antenas de *A. argillacea*, do que os outros tipos de sensilas (Fig. 1A). Apresentando distribuição na região lateral e ventral das antenas. Esta sensila possui formato de pêlo, com cutícula apresentando anelamento em quase toda a sua extensão (Fig. 1B). Pelas suas características externas, a s. trichodea foi subdividida em três tipos: I, II e III (Fig. 1C). A s. trichodea tipo I forma um “S” perpendicular à antena, concentrando-se principalmente na região ventral (Fig. 1D). A tipo II apresentando uma curvatura, assemelhando-se a um “C” (Fig. 1E). Enquanto que o tipo III pode ou não ser ligeiramente curvada, estando disposta, geralmente, paralela a antena (Fig. 1F). O tipo II e III ocorreram tanto na região lateral como na região ventral da antena.

A sensila chaetica (s. chaetica) possui o formato de pêlo longo (Figs. 2A-D), com sulcos longitudinais na parede cuticular (Fig. 2E), surgindo de uma base em forma de anel. Foram observadas um total de seis s. chaeticas por antenômero, duas dorsais, duas laterais e duas ventrais, exceto no último antenômero que possui um maior número (Fig. 2F).

A sensila coeloconica (s. coeloconica) possui um formato de “poço”; apresentando uma estrutura coniforme no centro, que possui ranhuras na cutícula. Esta sensila é rodeada por cerca 10 a 12 espinhos voltados para o interior da sensila (Figs. 3A-B).

A sensila auricillica (*s. auricillica*) possui um formato de “orelha de coelho”. A superfície cuticular apresenta uma concavidade rasa, com pequenos sulcos longitudinais na cutícula (Figura 3C). Esta sensila apresentou uma variação morfológica em relação as bordas laterais serem ou não mais voltadas para dentro da sensila (Figs. 3C-D). A sensila styloconica (*s. styloconica*) se localiza na região ventral das antenas, na extremidade distal dos antenômeros. Sendo observado uma única sensila por seguimento. Esta sensila apresenta parede cuticular ornamentada, com o topo da sensila lisa contendo duas estruturas coniformes (Figs. 3E-F).

A sensila basiconica (*s. basiconica*) possui um formato de estaca, cuja parede cuticular apresenta estrias semelhantes a “espinha de peixe”. Esta sensila se afila da base para o ápice, sendo que a extremidade apical apresenta formato triangular (Figs. 4A-D). A *s. basicônica* foi subdividida em dois tipos: I e II, baseando-se no seu tamanho. A *s. basiconica* tipo I (Figs. 4A-B), é mais longa do que o tipo II (Figs. 4C-D), sendo que esta última, além de ser menor, pode ou não ser curvada na base.

As sensila Böhm bristles (*s. Böhm bristles*) está presente no pedicelo e escapo das antenas, próximo as articulações que unem a cabeça ao escapo e o escapo ao pedicelo. Esta sensila possui formato de cone, com parede cuticular lisa (Figs. 4E-F).

As análises morfométricas mostraram que o comprimento e diâmetro basal da *s. trichodea* tipo I, foi significativamente maior em machos do que em fêmeas. Os machos também possuem um maior comprimento da *s. trichodea* tipo II. Entretanto, as fêmeas apresentaram maior comprimento para a *s. auricillica* em relação aos machos. Nas *s. styloconicas* verificou-se diferenças no diâmetro basal, sendo maior nos machos em relação às fêmeas. As outras sensilas não apresentaram diferenças entre machos e fêmeas (Tabela 1).

Em relação a região proximal e distal das antenas; nos machos só foram observadas diferenças no comprimento da sensila chaetica lateral e ventral e no diâmetro basal da *s. basiconica* tipo I

(Tabela 2). Nas fêmeas apenas a sensila chaetica lateral e ventral mostraram diferenças em relação a comprimento. No que se refere ao diâmetro apenas as sensilas chaetica ventral e trichodea I apresentaram diferenças na base da sensila (Tabela 3).

Discussão

Os insetos se orientam principalmente através de estímulos químicas presentes no ambiente. Localizando fontes de alimentos e sítios de oviposição, atrás de voláteis emitidos por seus hospedeiros ou indo de encontro a seus parceiros para realização da cópula, mediante a percepção de feromônio sexual (Schneider 1964, Cossé *et al.* 1998, Smith 2007, Park *et al.* 2013, Wee *et al.* 2016). Esta percepção é feita através das sensilas quimiorreceptoras, que detectam essas moléculas de odores, fazendo com que esses organismos localizem com precisão seus alvos (Gullan & Cranston 2012, Cribb & Merritt 2013).

Devido a sua grande importância, as s. quimiorreceptoras estão presentes, geralmente, em maior número nas antenas dos insetos. Sendo relatado em algumas espécies de Lepidópteros uma predominância da sensila trichodea (Zheng *et al.* 2014, Change *et al.* 2015, Seada 2015, Yang *et al.* 2017), como observado nas antenas de *A. argillacea*. Esta sensila desempenha um importante papel na percepção dos voláteis de plantas e feromônios sexuais (Wee *et al.* 2016, Binyameen *et al.* 2012); graças à presença de poros em sua cutícula que permitem a entrada destas moléculas para a cavidade sensilar, onde se ligam a seus receptores, desencadeando respostas específicas aos estímulos (Cossé *et al.* 1998, Gullan & Cranston 2012, Cribb & Merritt 2013).

A s. trichodea apresenta variações morfológicas, podendo ser classificadas em vários subtipos de acordo com características externas como formato e tamanho (Chang *et al.* 2015, Seada 2015) e número de células sensoriais (Hallberg *et al.* 1994). No caso das espécies de Lepidópteros como *Mythimna separata* (Walker) (Chang *et al.* 2015), *H. armigera* (Diongue *et al.* 2013),

Catocala remissa Staudinger (Zeng *et al.* 2014) e *Plodia interpunctella* (Hübner) (Ndomo-Moualeu *et al.* 2014), foram observados três subtipos de s. trichodea, estando em conformidade com *A. argillacea*. Já nas espécies *Sitotroga cerealella* Oliver (Ma *et al.* 2017), *Copitarsia consueta* (Walker) (Castrejón-Gómez *et al.* 1999) e *S. littoralis* (Seada 2015) a s. trichodea foi subdividida em dois subtipos. Enquanto que em *Parnara guttata* (Bremer & Grey), *Parnara bada* Moore, *Pelopidas Mathias* Fabricius e *Pelopidas agna* Moore, a s. trichodea foi classificada apenas em um só tipo (Xiangqun *et al.* 2014).

As variações morfológicas na s. trichodea têm demonstrado que os subtipos podem exercer funções mais específicas na captação de moléculas de odores. Alguns autores têm sugerido que a s. trichodea tipo I (s. trichodea longa) está relacionada com a percepção do feromônio sexual (Van Der Pers & Den Otter 1978, Doezer *et al.* 2003, Binyameen *et al.* 2012). Além disso, este subtipo de sensila está presente em maior número nos machos de algumas espécies de Lepidópteros, tais como, *M. separata* (Chang *et al.* 2015) e *S. cerealella* (Ma *et al.* 2017). Já em outras como *C. consueta* (Castrejón-Gómez *et al.* 1999), *P. interpunctella* (Ndomo-Moualeu *et al.* 2014) e *C. remissa* (Zheng *et al.* 2014) a s. trichodea tipo I está presente somente nos machos.

No caso das fêmeas que possuem a s. trichodea tipo I, alguns trabalhos têm mostrado que estas podem responder ao feromônio sexual emitidos por outras fêmeas; desencadeando comportamentos distintos, a depender da espécie, como agregando-se para aumentar as chances de se acasalarem, repelindo outras fêmeas ou estimulando a oviposição (Birch 1977, Palanaswamy & Seabrook 1978, Saad & Scoot 1981). Entretanto para *A. argillacea*, ainda são desconhecidas a funcionalidade deste subtipo de sensila. Porém, a diferença observada no comprimento deste subtipo de sensila entre machos e fêmeas, pode reforçar a importância da s. trichodea tipo I na captação de feromônio sexual emitidos por fêmeas. Entretanto, são necessários mais estudos relacionados a eletrofisiologia da sensila para comprovar esta hipótese. No caso das s. trichodea

tipo II e III, ainda são poucas as informações mais específicas em relação à função olfativa. Possivelmente, estas sensilas possam estar envolvidas na percepção de voláteis de plantas.

As sensilas quimiorreceptoras de contato desempenham um importante papel na aceitação ou não de substratos para alimentação e oviposição. Uma importante sensila que desempenha esta função gustativa é a *s. chaetica* (Hallberg *et al.* 1994, Cribb & Merritt 2013, Seada 2015). Esta sensila se diferencia da *s. trichodea* por apresentar sulcos longitudinais na cutícula e por possuir um único poro na extremidade apical. Enquanto que a *s. trichodea* apresenta anelamento na cutícula e possui inúmeros poros (Zheng *et al.* 2014, Chang *et al.* 2015). A distribuição da *s. chaetica* nas antenas, segue um padrão em algumas espécies de Noctuidae como *M. separata* (Chang *et al.* 2015) e *S. littoralis* (Seada 2015). Sendo relatado um total de seis sensilas por antenômero, e no último seguimento antenal um maior número desta sensila, como observado em *A. argillacea*. Nesta espécie as *s. chaeticas* laterais e ventrais da região distal possuem um maior comprimento em relação à região distal, sugerindo que a região distal seja mais ativa na captação de estímulos gustativos, como sugerido por Seada (2015) para *S. littoralis*.

Outros tipos de sensila quimiorreceptoras como *s. auricullica*, *s. coeloconica*, *s. styloconica* e *s. basicônica* também foram encontradas nas antenas de *A. argillacea*. A *s. auricullica* apresentou morfologia semelhante à *S. littoralis* (Seada 2015) e *Calyptra thalictri* (Borkhausen) (Hill *et al.* 2010). Em relação a sua funcionalidade, trabalhos realizados com *Scoliopteryx libatrix* L. (Anderson *et al.* 2000) e *S. littoralis* (Binyameen *et al.* 2012) mostraram que este tipo de sensila está envolvida na percepção de voláteis de plantas; enquanto que em *Cydia pomonella* (Walsingham) (Ebbinghaus *et al.* 1997) e *Eriocrania* spp. (Larsson *et al.* 2002) a *s. auricullica* dos machos respondeu a componentes de feromônio sexual das fêmeas.

A *s. coeloconica* em *A. argillacea* se mostrou semelhante à *S. littoralis* (Seada 2015), *H. armigera* (Diongue *et al.* 2013), *M. separata* (Chang *et al.* 2015) e *Pseudaletia unipuncta* (Haw.)

(Lavoie-Dornik & Mcneil 1987). Segundo Van der Pers (1981) a s. coeloconica está envolvida na percepção de voláteis de planta. Além disso, alguns trabalhos têm mostrado que a s. coeloconica está envolvida com funções higrorreceptoras e termorreceptoras nos insetos, detectando mudanças de umidade e temperatura do ambiente, respectivamente (Altner *et al.* 1977, Altner *et al.* 1983).

A s. styloconica em *A. argillacea*, estar presente na região ventral das antenas, na extremidade distal de cada antenômero. Sendo este padrão observado em *P. unipuncta* (Lavoie-Dornik & Mcneil 1987) e *S. littoralis* (Seada 2015). Além da função quimiorreceptora (Wall 1978, Lavoie & McNeil 1987, Chang *et al.* 2015), tem-se sugerido que esta sensila está envolvida na função termo-higrorreceptora em *Bombyx mori* L. (Steinbrecht & Muller 1991).

A s. basiconica tipo I em *A. argillacea*, são bastante semelhantes as s. trichodea, porém quando aproximadas, é possível diferenciá-las pela parede da cutícula e pela extremidade apical que é mais triangular na s. basiconica. A s. basiconica também foi relatada em espécies de Noctuidae como *C. consueta* (Castrejón-Gómez *et al.* 1999), *M. separata* (Chang *et al.* 2015) e *S. littoralis* (Seada 2015); sendo atribuída uma função geralmente quimiorreceptora nos insetos (Chang *et al.* 2015).

Um tipo de sensila mecanorreceptora encontrada nas antenas de *A. argillacea* foi a s. Böhm bristles. Esta sensila se restringe ao escapo e pedicelo das antenas, próximo as articulações desses segmentos, não apresentando poros na cutícula (Chang *et al.* 2015). Sua função pode estar relacionada com a detecção do posicionamento e os movimentos das antenas, desempenhando um papel mecanorreceptor nos insetos (Schneider 1964, Merrivee *et al.* 2002, Krishnan *et al.* 2012).

Assim, podemos concluir que as antenas de *A. argillacea* possuem sete tipos de sensilas. Morfometricamente verificou-se diferença nas sensilas entre machos e fêmeas com relação ao comprimento e diâmetro basal e nas regiões distal e proximal. Isto sugere que a funcionalidade dessas sensilas pode variar não apenas de uma espécie para outra, mas dentro da mesma espécie

quando comparada entre macho e fêmea. Assim, estudos de microscopia eletrônica de transmissão e eletrofisiologia das sensilas, podem fornecer maiores detalhes das sensilas e suas funcionalidades em *A. argillacea*.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento de pesquisa e ao LIKA pela disponibilidade dos equipamentos, possibilitando a desenvolvimento da pesquisa.

Literatura Citada

- Altner, H., L. Schaller-Selzer, H. Stetter & I. Wohlrab. 1983.** Poreless sensilla with inflexible sockets: a comparative study of a fundamental type of insect sensilla probably comprising thermo- and hygroreceptors. *Cell Tissue Res.* 234: 279-307.
- Altner, H., H. Sass & I. Altner. 1977.** Relationship between structure and function of antennal chemo-, hygro-, and thermoreceptive sensilla in *Periplaneta americana*. *Cell Tissue Res.* 176: 389-405.
- Anderson P, E. Hallberg & M. Subchev. 2000.** Morphology of antennal sensilla auricillica and their detection of plant volatiles in the Herald moth, *Scoliopteryx libatrix* L. (Lepidoptera: Noctuidae). *Arthropod Struct Dev.* 29: 33-41.
- Binyameen M., P. Anderson, R. Ignell, M.A. Seada, B.S. Hansson & F. Schlyter. 2012.** Spatial organization of antennal olfactory sensory neurons in the female *Spodoptera littoralis* moth: differences in sensitivity and temporal characteristics. *Chem. Senses* 37: 613-629.
- Birch, M.C. 1977.** Response of both sexes of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) to virgin females and to synthetic pheromone. *Ecol. Entomol.* 2: 99-104.
- Carvalho, S.M. 1981.** Biologia e nutrição de *Alabama argillacea* (Huebner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) em três cultivares de algodoeiro. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 97p.
- Castrejón-Gómez, V. R., J. Valdez-Carrasco, J. Cibrian-Tovar, M. Camino-Lavin & R. Osorio. 1999.** Morphology and distribution of the sense organs on the antennae of *Copitarsia consueta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Fla. Entomol.* 82: 546-555.

- Chapman, R.F. 1982.** Chemoreception: the significance of receptor numbers. *Adv. Insect Physiol.* 16: 247-333.
- Chang X., S. Zhang, L. Lv & M. Wang. 2015.** Insight into the ultrastructure of antennal sensilla of *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Insect. Sci.* 15: 124.
- Chapman, R.F. 1998.** *The Insects: structure and function*, 4^o ed. Cambridge, Cambridge University Press, 788p.
- Cossé, A.A., J. L. Todd & T. C. Baker. 1998.** Neurons discovered in male *Helicoverpa zea* antennae that correlate with pheromone-mediated attraction and interspecific antagonismo. *J. Comp. Physiol. A* 182: 585-594.
- Cribb B.W & DJ. Merritt. 2013.** Chemoreception, p. 771-792. In S.J. Simpson, A.E. Douglas (eds). *The insects: structure and function*, 5^o ed. Cambridge, Cambridge University Press, 929p.
- Diongue, A., J. Yang & P. Lai. 2013.** Biomorphometric characteristics of different types of sensilla detected on the antenna of *Helicoverpa armigera* by scanning electron microscopy. *J. Asia Pac. Entomol.* 16: 23-28.
- Dolzer, J., K. Fischer & M. Stengl. 2003.** Adaptation in pheromone-sensitive trichoid sensilla of the hawkmoth *Manduca sexta*. *J. Exp. Biol.* 206: 1575-1588.
- Ebbinghaus, D., P.M. Lösel, M. Lindemann, J. Scherkenbeck & C.P.W. Zebitz. 1997.** Detection of major and minor sex pheromone components by the male codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Insect. Physiol.* 44: 49-58.
- Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2012.** *Os insetos: um resumo de entomologia*. São Paulo, Roca editora, 440p.
- Hallberg, E, B.S. Hansson & R.A. Steinbrecht. 1994.** Morphological characteristics of antennal sensilla in the European cornborer *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Cell Tissue* 26: 489-502.
- Hempolchom, C., T. Yasanga, A. Wijit, K. Taai, W. Dedkhad, W. Srisuka, S. Thongsahuan, Y. Otsuka, H. Takaoka & A. Saeung. 2017.** Scanning electron microscopy of antennal sensilla of the eight *Anopheles* species of the Hyrcanus Group (Diptera: Culicidae) in Thailand. *Parasitol. Res.* 116: 143-153.
- Hill, S.R., J. Zaspel, S. Weller, B.S. Hansson & R. Ignell. 2010.** To be or not to be... a vampire: A matter of sensillum numbers in *Calyptra thalictri*?. *Arthropod Struct. Dev.* 39: 322-333.
- Larsson, M.C, E. Hallberg, M.V. Kozlov, W. Francke, B.S. Hansson & C. Löfstedt. 2002.** Specialized olfactory receptor neurons mediating intra- and interspecific chemical communication in leafminer moths *Eriocrania* spp. (Lepidoptera: Eriocraniidae). *J. Exp. Biol.* 205: 989-998.

- Lavoie-Dornik, J. & J.N. McNeil. 1987.** Sensilla of the antennal flagellum in *Pseudaletia unipuncta* (Haw.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 16:153-167.
- Keil, T.A. 1997.** Functional morphology of insect mechanoreceptors. *Microsc. Res. Tech.* 39: 506-531.
- Krishnan, A., S. Prabhakar, S. Sudarsan & S.P. Sane. 2012.** The neural mechanisms of antennal positioning in flying moths. *J. Exp. Biol.* 215: 3096-3105.
- Palanaswamy, P. & W.D. Seabrook. 1978.** Behavioral responses of the female eastern spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera, Tortricidae) to the sex pheromone of her own species. *J. Chem. Ecol.* 4: 649-655.
- Park, K.C., M. McNeill, C.R. Unelius, H. Ohd & D.M. Suckling. 2013.** Characterization of olfactory receptor neurons for pheromone candidate and plant volatile compounds in the clover root weevil, *Sitona lepidus*. *J. Insect. Physiol.* 59: 1222-1234.
- Pezzi, M., C. Scapoli, E. Mamolini, M. Leis & T. Bonacci, D. Whitmore, S. Krčmar, M. Furini, S. Giannerini, M. Chicca, R. Cultrera & M.J. Faucheux. 2018.** Ultrastructural characterization of sensilla and microtrichia on the antenna of female *Haematopota pandazisi* (Diptera: Tabanidae). *J. Parasitol. Res.* 117:959-970.
- Ma, M., M. Chang, Y. Lu, C. Lei & F. Yang. 2017.** Ultrastructure of sensilla of antennae and ovipositor of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae), and location of female sex pheromone gland. *Sci. Rep.* 7: 40637.
- Merivee, E., A. Ploomi, M. Rahi, J. Bresciani, H. P. Ravn, A. Luik & V. Smamelselg. 2002.** Antennal sensilla of the ground beetle *Bembidion properans* Steph. (Coleoptera, Carabidae). *Micron* 33: 429-440.
- Ndomo-Moualeu, A.F., C. Ulrichs, R. Radek & C. Adler. 2014.** Structure and distribution of antennal sensilla in the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stored Prod Res.* 59: 66-75.
- Ramalho, F.S. 1994.** Cotton pest management: Part 4. A Brazilian perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 563-578.
- Ramalho, F.S., J.K.S. Pachú, A.C.S. Lira, J.B. Malaquias, J.C. Zanuncio, F.S. Fernandes. 2014.** Feeding and dispersal behavior of the cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on Bt and Non-Bt cotton: Implications for evolution and resistance management. *Plos One* 9: e111588.
- Ravaiano, S.V., R.P. Ferreira, L.A.O. Campos & G.F. Martins. 2014.** The antennal sensilla of *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini): a study of diferente sexes and castes. *Naturwissenschaften* 101: 603-611.

- Ren, L., Y. Wu, J. Shi, L. Zhang & Y. Luo. 2014.** Antenna morphology and sensilla ultrastructure of *Tetrigus lewisi* Candèze (Coleoptera: Elateridae). *Micron* 60: 29-38.
- Saad, A.D. & D.R. Scott. 1981.** Repellency of pheromones released by females of *Heliothis armigera* and *H. zea* to females of both species. *Entomol. Exp. Appl.* 30: 123-127.
- Schneider, D. 1964.** Insect antennae. *Annu. Rev. Entomol.* 9: 103-122.
- Seada, M.A. 2015.** Antennal morphology and sensillum distribution of female cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Basic. Appl. Zool.* 68: 10-18.
- Smith, D.P. 2007.** Odor and pheromone detection in *Drosophila melanogaster*. *Eur. J. Physiol.* 454:749-758.
- SAS Institute. 2002.** User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute INC., Cary, NC.
- Stange, G. & S. Stowe. 1999.** Carbon-dioxide sensing structures in terrestrial arthropods. *Microsc. Res. Tech.* 47: 416-427.
- Steinbrecht, R. A. & B. Müller. 1991.** The thermo-/hygrosensitive sensilla of the silkworm, *Bombyx mori*: morphological changes after dry-and moist-adaptation. *Cell Tissue Res.* 266: 441-456.
- Sukontason, K., R. Methanitikorn, T. Chaiwong, H. Kurahashi, R. C. Vogtsberger & K. L. Sukontason. 2007.** Sensilla of the antenna and palp of *Hydrotaea chalcogaster* (Diptera: Muscidae). *Micron* 38: 218-223.
- Van Der Pers & C.J. Den Otter. 1978.** Single cell responses from olfactory receptors of small ermine moths to sex-attractants. *J. Insect Physiol.* 24: 337-243.
- Van Der Pers. 1981.** Comparison of electroantennogram response spectra to plant volatiles in seven species of *Yponomeuta* and in the *Tortricid adoxophyes* Orana. *Entomol. Exp. Appl.* 30: 181-192.
- Vera, W. & J. Bergmann. 2018.** Distribution and ultrastructure of the antennal sensilla of the grape weevil *Naupactus xanthographus* (Coleoptera: Curculionidae). *Microsc. Res. Tech.* 1-9.
- Wall, C. 1978.** Morphology and histology of the antenna of *Cydia nigricana* (F.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 7: 237-250.
- Wee, S.L., H.W. Oh & K.C. Park. 2016.** Antennal sensillum morphology and electrophysiological responses of olfactory receptor neurons in trichoid sensilla of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Fla. Entomol.* 99:146-158.
- Yan X., C. Deng, J. Xie, L. Wu, X. Sun & C. Hao. 2017.** Distribution patterns and morphology of sensilla on the antennae of *Plutella xylostella* (L.)-A scanning and transmission electron microscopic study. *Micron* 103: 1-11.

- Yang, S., H. Liu, J.T. Zhang, J. Liu, H. Zheng & Y. Ren. 2017.** Scanning electron microscopy study of the antennal sensilla of *Monema flavescens* Walker (Lepidoptera: Limacodidae). *Neotrop. Entomol.* 46: 175-181.
- Xiangqun, Y., G. Ke, Y. Feng & Z. 2014.** Ultrastructure of antennal sensilla of four skipper butterflies in *Parnara* sp. and *Pelopidas* sp. (Lepidoptera, Hesperidae). *ZooKeys* 399: 17-27.
- Zacharuk, R.Y. 1980.** Ultrastructure and function of insect chemosensilla. *Annu. Rev. Entomol.* 25: 27-47.
- Zhang, L., Y. Feng, L. Ren, Y. Luo, F. Wang & S. Zong. 2015.** Sensilla on antenna, ovipositor and leg of *Eriborus applicitus* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid wasp of *Holcocerus insularis* staudinger (Lepidoptera: Cossidae). *Acta Zool.* 96: 253-263.
- Zheng H., H. Liu, S. Guo, Y. Yan, S. Zong & J. Zhang. 2014.** Scanning electron microscopy study of the antennal sensilla of *Catocala remissa*. *Bull. Insectology* 67: 63-71.
- Zhou, C., X. Sun, F. Mi, J. Chen & M. Wang. 2015.** Antennal sensilla in the parasitoid *Sclerodermus* sp. (Hymenoptera: Bethyridae). *J. Insect. Sci.* 15: 1-7.

Tabela 1. Tamanho médio (\pm EP) (μm) das sensilas da antena de *Alabama argillacea*.

Sensilas	Comprimento (μm)			Diâmetro basal (μm)			Diâmetro apical (μm)		
	♀	♂		♀	♂		♀	♂	
Chaetica Dorsal	68,5 \pm 2,73	71,2 \pm 2,41	t=-0,62 P=0,5462	3,0 \pm 0,11	3,0 \pm 0,10	t=-0,05 P=0,9631	1,2 \pm 0,07	1,4 \pm 0,07	t=-1,13 P=0,2740
Chaetica Lateral	70,9 \pm 7,30	79,1 \pm 7,88	t=-0,79 P=0,4422	4,2 \pm 0,19	4,6 \pm 0,18	t=-1,28 P=0,2152	1,4 \pm 0,04	1,4 \pm 0,06	t=0,49 P=0,6319
Chaetica Ventral	93,0 \pm 6,88	98,2 \pm 12,45	t=-0,36 P=0,7221	5,7 \pm 0,37	5,5 \pm 0,19	t=0,50 P=0,6232	1,5 \pm 0,06	1,4 \pm 0,07	t=1,15 P=0,2671
Trichodea I	40,3 \pm 0,97	44,2 \pm 0,68	t=-2,62 P=0,0173	2,4 \pm 0,10	2,7 \pm 0,06	t=-2,62 P=0,0173	0,7 \pm 0,03	0,7 \pm 0,03	t=0,50 P=0,6224
Trichodea II	32,9 \pm 1,56	37,4 \pm 1,38	t=-2,13 P=0,0469	2,3 \pm 0,10	2,6 \pm 0,087	t=-1,69 P=0,1085	0,6 \pm 0,03	0,7 \pm 0,03	t=-1,35 P=0,1926
Trichodea III	30,6 \pm 1,96	30,4 \pm 0,93	t=0,07 P=0,9486	1,9 \pm 0,11	2,0 \pm 0,10	t=-0,71 P=0,4847	0,7 \pm 0,04	0,7 \pm 0,02	t=0,64 P=0,5291
Basiconica I	22,8 \pm 1,02	23,9 \pm 0,10	t=-0,82 P=0,4240	1,6 \pm 0,04	1,5 \pm 0,04	t=1,87 P=0,0775	0,8 \pm 0,04	0,7 \pm 0,05	t=0,80 P=0,4347
Basiconica II	11,2 \pm 0,39	10,5 \pm 0,42	t=1,28 P=0,2168	1,6 \pm 0,09	1,6 \pm 0,08	t=0,50 P=0,5609	0,9 \pm 0,02	0,8 \pm 0,03	t=0,65 P=0,5262
Bohm bristles	27,0 \pm 3,07	18,1 \pm 3,53	t=1,85 P=0,1008	2,2 \pm 0,11	2,2 \pm 0,05	t=0,30 P=0,7699	0,5 \pm 0,14	0,4 \pm 0,03	t=0,47 \pm P=0,6604
Auricillica ¹	13,8 \pm 0,34	12,5 \pm 0,47	t=2,31 P=0,0327	3,6 \pm 0,40	3,1 \pm 0,20	t=1,17 P=0,2554	4,6 \pm 0,29	4,5 \pm 0,47	t=0,23 P=0,8235
Coeloconica ²	-	-	-	9,2 \pm 0,24	9,7 \pm 0,28	t=-1,18 P=0,2550	-	-	-
Styloconica	20,9 \pm 0,47	20,4 \pm 0,62	t=0,67 p=0,5135	6,5 \pm 0,29	8,0 \pm 0,44	t=-2,81 P=0,0115	5,87 \pm 0,43	6,13 \pm 0,32	t=-0,49 P=0,6309

1- Para a sensila auricillica, considerou-se o diâmetro apical, o local no qual a sensila possui a maior largura, na região mediana.

2- Comprimento médio do diâmetro do poço.

Tabela 2. Tamanho médio (\pm EP) (μm) das sensilas da antena de machos de *Alabama argillacea*

Sensilas	Comprimento (μm)			Diâmetro basal (μm)			Diâmetro apical (μm)		
	Proximal	Distal		Proximal	Distal		Proximal	Distal	
Chaetica Dorsal	65,2 \pm 1,64	77,3 \pm 5,60	t=2,07 P=0,0965	2,9 \pm 0,03	3,1 \pm 0,18	t=1,23 P=0,2827	1,3 \pm 0,14	1,4 \pm 0,06	t=0,38 p=0,7160
Chaetica Lateral	60,5 \pm 5,58	97,7 \pm 8,70	t=3,59 P=0,0070	4,4 \pm 0,27	4,7 \pm 0,24	t=0,71 P=0,4991	1,3 \pm 0,04	1,4 \pm 0,10	t=1,38 p=0,2050
Chaetica Ventral	64,3 \pm 4,25	132,1 \pm 10,25	t=6,11 P=0,0003	5,8 \pm 0,30	5,2 \pm 0,14	t=-2,02 P=0,0784	1,4 \pm 0,09	1,4 \pm 0,11	t=-0,35 p=0,7386
Trichodea I	45,4 \pm 0,69	43,0 \pm 0,96	t=-1,96 P=0,0861	2,7 \pm 0,10	2,7 \pm 0,09	t=-0,09 P=0,9313	0,7 \pm 0,06	0,7 \pm 0,03	t=-0,38 p=0,7164
Trichodea II	38,0 \pm 2,35	36,8 \pm 1,71	t=-0,41 P=0,6941	2,7 \pm 0,12	2,4 \pm 0,09	t=-2,05 P=0,0749	0,7 \pm 0,03	0,6 \pm 0,06	t=-0,33 p=0,7475
Trichodea III	30,6 \pm 1,24	30,3 \pm 1,54	t=-0,14 P=0,8902	1,9 \pm 0,06	2,0 \pm 0,21	t=0,33 P=0,7523	0,7 \pm 0,03	0,7 \pm 0,04	t=0,04 p=0,9681
Basiconica I	22,9 \pm 1,33	24,9 \pm 1,49	t=0,99 P=0,3528	1,4 \pm 0,02	1,5 \pm 0,05	t=2,83 P=0,0392	0,7 \pm 0,06	0,8 \pm 0,09	t=0,58 p=0,5810
Basiconica II	10,5 \pm 0,64	10,4 \pm 0,60	t=-0,15 P=0,8880	1,7 \pm 0,08	1,5 \pm 0,13	t=-1,45 P=0,1843	0,9 \pm 0,03	0,8 \pm 0,05	t=-0,29 p=0,7801
Auricillica ¹	12,3 \pm 0,60	12,7 \pm 0,78	t=0,33 P=0,7517	3,0 \pm 0,26	3,3 \pm 0,32	t=0,78 P=0,4596	3,6 \pm 0,35	2,3 \pm 0,72	t=2,08 p=0,0715
Coeloconica ²	-	-	-	2,6 \pm 0,11	9,7 \pm 0,58	t=0,10 P=0,9266	-	-	-
Styloconica	19,4 \pm 0,75	21,42 \pm 0,82	t=1,81 P=0,1079	7,8 \pm 0,32	8,2 \pm 0,87	t=0,49 P=0,6383	6,5 \pm 0,44	5,7 \pm 0,42	t=-1,33 p=0,2196

1- Para a sensila auricillica, considerou-se o diâmetro apical, o local no qual a sensila possui a maior largura, na região mediana.

2- Comprimento médio do diâmetro do poço.

Tabela 3. Tamanho médio (\pm EP) (μm) das sensilas da antena de fêmea de *Alabama argillacea*

Sensilas	Comprimento (μm)			Diâmetro basal (μm)			Diâmetro apical (μm)		
	Proximal	Distal		Proximal	Distal		Proximal	Distal	
Chaetica Dorsal	70,4 \pm 4,98	66,6 \pm 2,62	t=0,68 P=0,5133	2,9 \pm 0,045	3,1 \pm 0,23	t=0,84 P=0,4430	1,3 \pm 0,12	1,2 \pm 0,08	t=-0,40 P=0,6972
Chaetica Lateral	54,6 \pm 5,60	86,7 \pm 8,94	t=3,04 P=0,0161	4,4 \pm 0,21	4,1 \pm 0,34	t=-0,78 P=0,4593	1,3 \pm 0,04	1,4 \pm 0,06	t=1,56 P=0,1570
Chaetica Ventral	77,6 \pm 2,918	108,5 \pm 9,25	t=3,18 P=0,0261	6,6 \pm 0,46	4,8 \pm 0,17	t=-3,55 P=0,0075	1,6 \pm 0,09	1,5 \pm 0,08	t=-0,70 P=0,5015
Trichodea I	41,8 \pm 1,65	38,9 \pm 0,66	t=-1,64 P=0,1387	2,6 \pm 0,11	2,1 \pm 0,03	t=-4,37 P=0,0085	0,7 \pm 0,04	0,7 \pm 0,03	t=-0,67 P=0,5218
Trichodea II	31,1 \pm 2,09	34,8 \pm 2,19	t=1,23 P=0,2545	2,4 \pm 0,10	2,4 \pm 0,20	t=0,03 P=0,9788	0,6 \pm 0,05	0,6 \pm 0,05	t=0,47 P=0,6522
Trichodea III	30,7 \pm 2,98	30,5 \pm 2,91	t=-0,05 P=0,9637	1,8 \pm 0,23	1,9 \pm 0,08	t=0,11 P=0,9113	0,7 \pm 0,03	0,7 \pm 0,07	t=0,71 P=0,5001
Basiconica I	22,8 \pm 0,72	22,7 \pm 2,03	t=-0,07 P=0,9433	1,5 \pm 0,04	1,6 \pm 0,06	t=1,01 P=0,3406	0,8 \pm 0,05	0,8 \pm 0,05	t=-0,14 P=0,8954
Basiconica II	11,1 \pm 0,57	11,3 \pm 0,60	t=0,22 P=0,8344	1,7 \pm 0,17	1,6 \pm 0,10	t=-0,54 P=0,6011	0,9 \pm 0,03	0,8 \pm 0,04	t=-0,93 P=0,3818
Auricillica ¹	13,9 \pm 0,61	13,8 \pm 0,36	t=-0,13 P=0,8982	4,0 \pm 0,71	3,3 \pm 0,38	t=-0,92 P=0,3865	4,7 \pm 0,18	4,5 \pm 0,59	t=-0,26 P=0,8081
Coeloconica ²	-	-	-	9,0 \pm 0,41	9,5 \pm 0,22	t=1,71 P=0,2752	-	-	-
Styloconica	20,3 \pm 0,57	21,6 \pm 0,66	t=1,53 P=0,1653	6,94 \pm 0,69	6,0 \pm 0,97	t=-1,73 P=0,1224	5,6 \pm 0,44	6,2 \pm 0,76	t=0,68 P=0,5270

1- Para a sensila auricillica, considerou-se o diâmetro apical, o local no qual a sensila possui a maior largura, na região mediana.

2- Comprimento médio do poço.

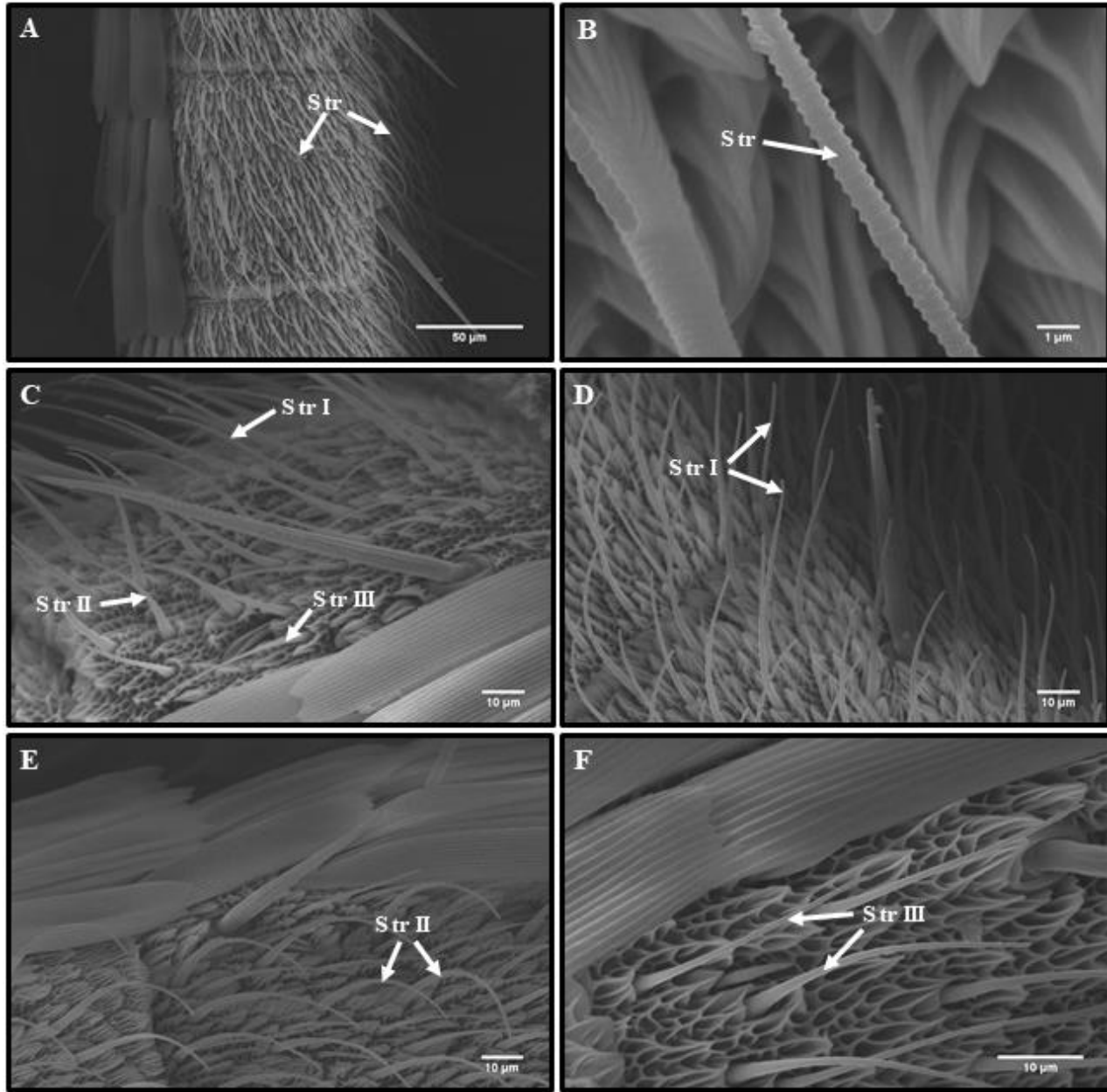


Figura 1. Micrografia das antenas de *Alabama argillacea*. (A-F) sensila trichodea; (A) visão geral das sensilas trichodea nos antenômeros; (B) Anelamento da cutícula da sensila trichodea; (C) sensila trichodea tipo I (D) sensila trichodea tipo II; (E) sensila trichodea tipo III; (F) sensila trichodea tipo I, II e III. S tr, s. trichodea; S tr I, s. trichodea tipo II; S tr III, s. trichodea tipo III.

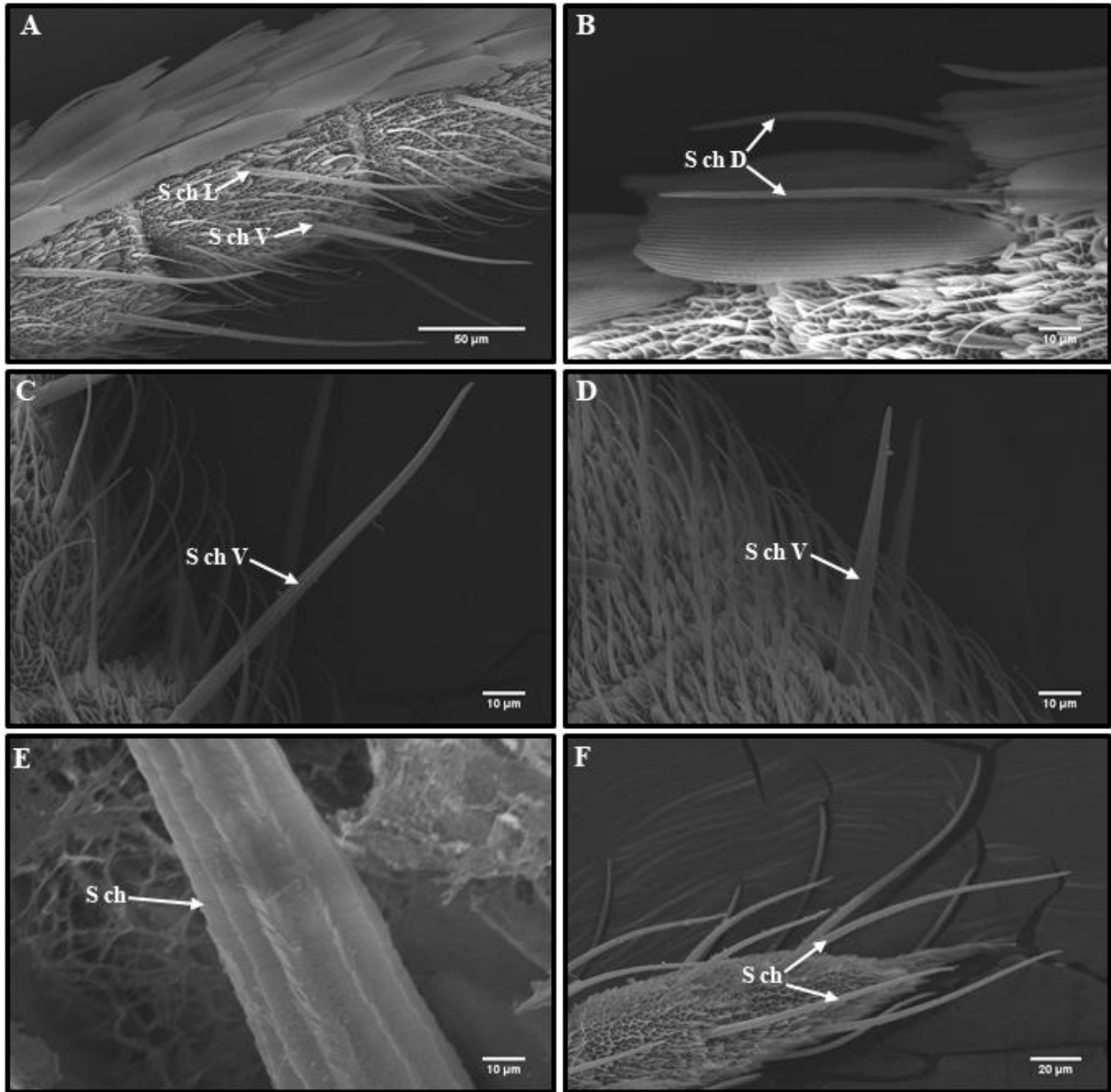


Figura 2. Micrografia das antenas de *Alabama argillacea*. (A-F) sensila chaetica; (A) s. Chaetica lateral e ventral; (B) s. chaetica dorsal; (C) s. chaetica ventral da região distal da antena; (D) s. chaetica ventral da região proximal da antena; (E) sulcos longitudinais da cutícula da s. chaetica; e (F) numeros s. chaeticas presentes no último antenômero apical. S ch, s. chaetica; S ch D, s. chaetica dorsal; S ch L, sensila chaetica lateral; S ch V, s. chaetica ventral.

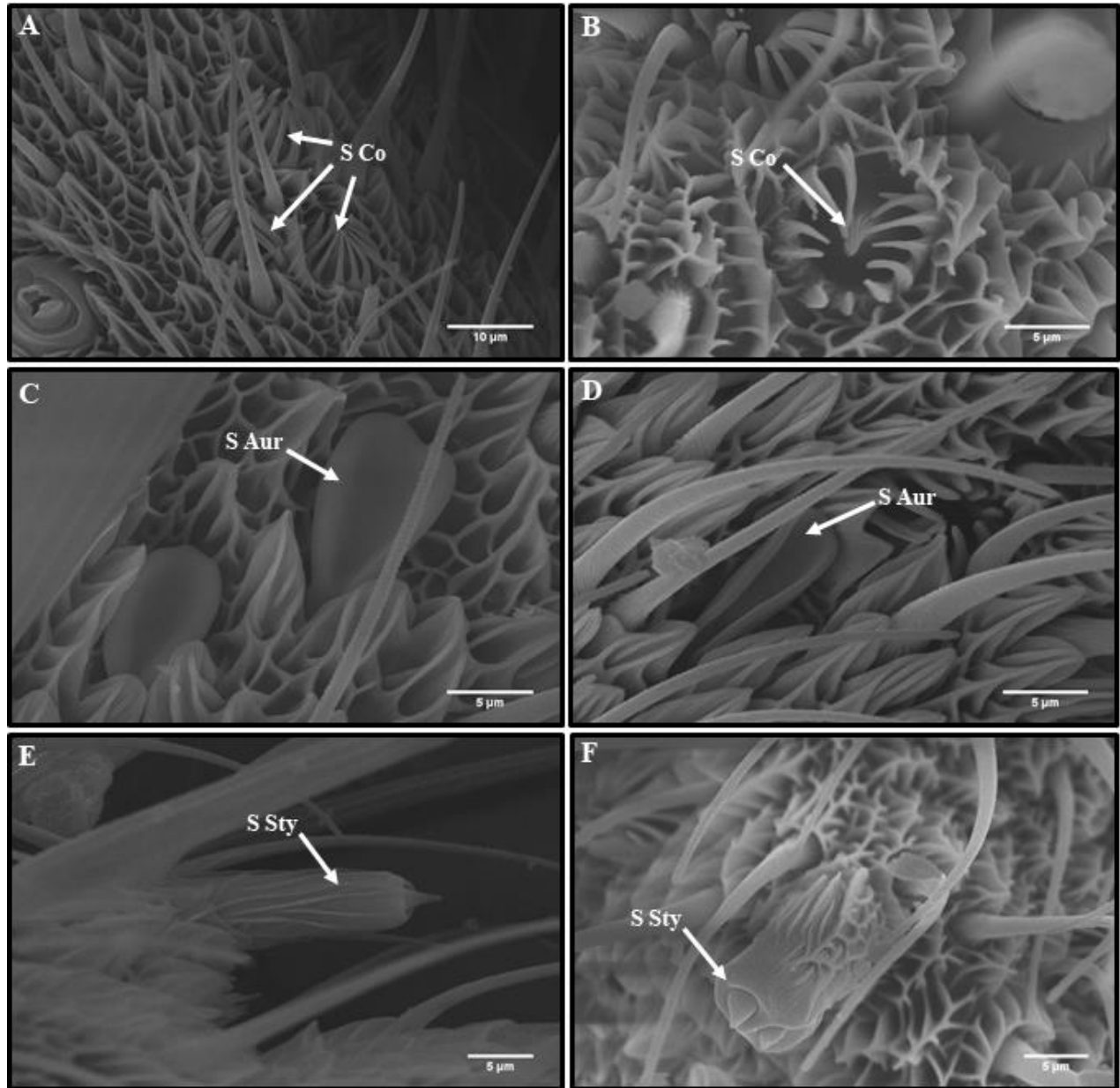


Figura 3. Micrografia das antenas de *Alabama argillacea*. (A-B) sensila Coeloconica; (A) três sensilas coeloconicas próximas; (B) detalhes da sensila coeloconica mostrando os espinhos envolta de uma estrutura conforme no centro; (C-D) sensila auriculica; (C) s. auriculica com bordas laterais mais abertas; (D) s. auriculica com bosdas laterais mais fechadas ao centro; (E-F) sensila styloconica; (E) s. stylocanica vista lateralmente; (F) s. styloconica mostrando duas estruturas conformes na extremidade apical; S co, s. coeloconica; S Aur, s. auriculica; S Sty, s. styloconica.

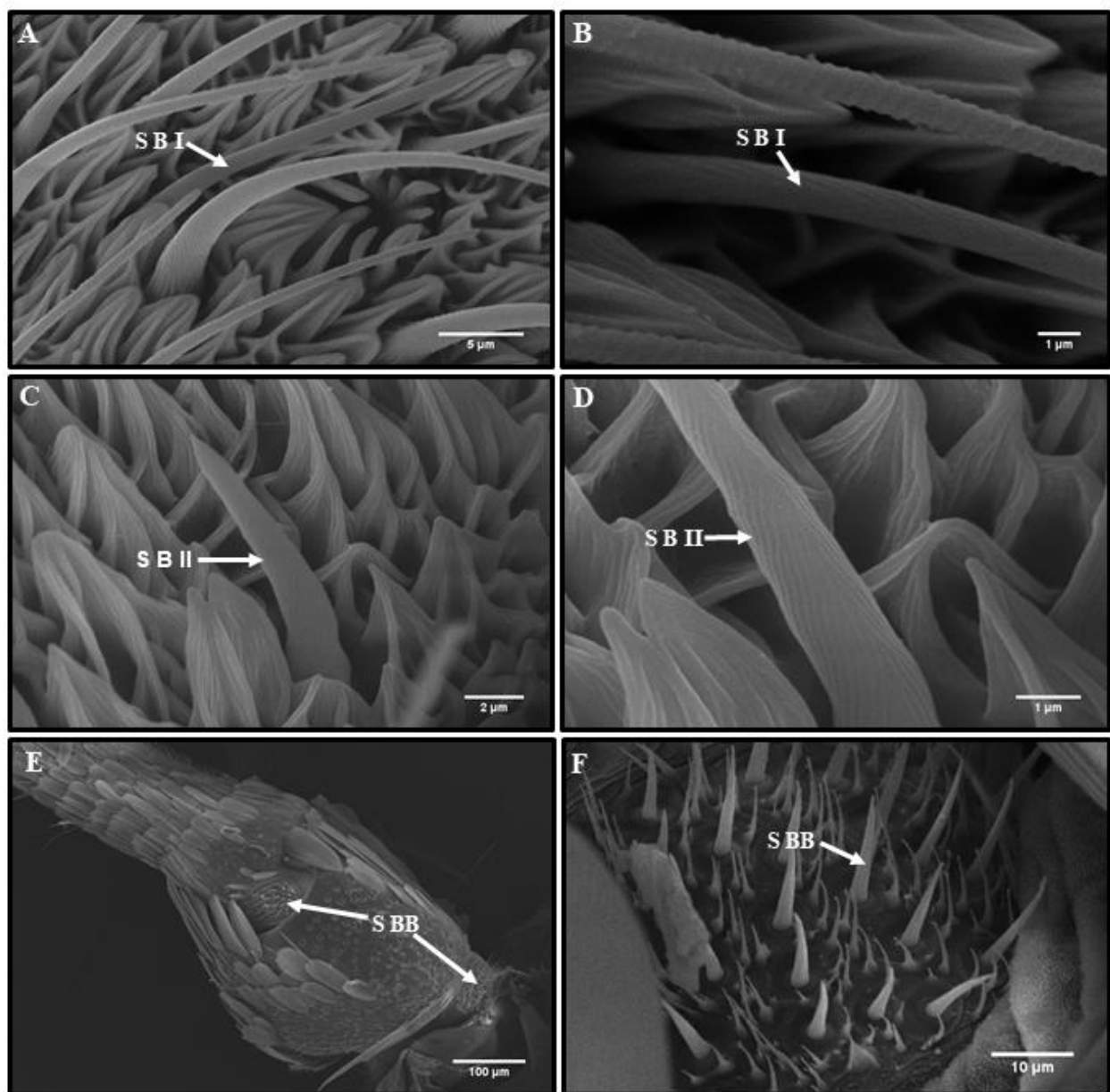


Figura 4. Micrografia das antenas de *Alabama argillacea*. (A-D) sensila basiconica; (A) s. basiconica tipo I; (B) conformação cuticular da s. basiconica tipo I, em forma de “espinha de peixe”; (C) s. basiconica tipo II; (D) conformação cuticular da s. basiconica tipo II, em forma de “espinha de peixe”; (E-F) sensila Böhm bristles; (E) s. Böhm bristles localizado no escapo e pedicelo da antena; (F) detalhes da s. Böhm bristles. S B I, basiconica tipo I; S B II, s. basiconica tipo II; S BB, sensila Böhm bristles.

CAPÍTULO 3

ESTUDO DE DETERRÊNCIA A OVIPOSIÇÃO E ELETROANTENOGRRAFIA DE *Alabama argillacea* (HÜBNER, 1823) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE) A ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS QUÍMICOS ¹

ANDREZO A. SANTOS², VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA^{2,3}, PAULO MILET-PINHEIRO⁴,
KAMILA A. DUTRA⁵, GLAUCILANE S. CRUZ², ÁLVARO A.C. TEIXEIRA³, JOSÉ V. OLIVEIRA²,
DANIELA M.A.F. NAVARRO⁵

²Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Brasil.

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Brasil.

⁴Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego s/n, 50670-901, Recife, Brasil.

⁵Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, Brasil.

¹Santos, A.A, V. Wanderley-Teixeira, P. Milet-Pinheiro, K.A. Dutra, G.S Cruz, Á.A.C. Teixeira, J.V. Oliveira, & D.M.A.F. Navarro. Comportamento de oviposição e eletroantenoграфия de *Alabama argillacea* (Hübner, 1823) (Lepidoptera: Erebidae) a óleos essenciais e compostos químicos. A ser submetido.

RESUMO - A Cromatografia gasosa acoplada à detecção eletroantegráfica (CG-EAD) tem permitido rastrear possíveis constituintes de um óleo essencial, que podem estar associados a uma determinada resposta comportamental de um inseto, sejam estes compostos majoritários ou minoritários. Neste caso, o presente trabalho objetivou avaliar a atividade deterrente dos óleos essenciais de *Mentha spicata*, *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus virginiana* e sobre a oviposição de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae), uma importante praga do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.); além de utilizar a técnica de CG-EAD para detectar os constituintes dos óleos que são percebidos pelas fêmeas e testar a sua bioatividade. Nos testes de preferência para oviposição, apenas o óleo essencial de *M. spicata* mostrou atividade deterrente a *A. argillacea*. As análises de CG-EAD revelaram que três compostos do óleo essencial de *M. spicata* desencadearam a despolarização das antenas das fêmeas de *A. argillacea*, sendo estes o limoneno, carvona e E-cariofileno. Nos biotestes com os três compostos, somente o limoneno provocou uma ação deterrente de oviposição, indicando que a bioatividade apresentada pelo óleo de *M. spicata* a *A. argillacea*, pode se dar pela ação deste composto. Assim, podemos concluir que dentre os compostos testados, o limoneno apresentou destaque por desencadear a despolarização das antenas de *A. argillacea* e provocar uma ação deterrente a oviposição desse inseto, mostrando que a bioatividade do óleo de *M. spicata* se dar pela ação desse composto, além disso a concentração utilizada não apresentou fitotoxicidade.

PALAVRAS-CHAVE: Curuquerê do algodoeiro, deterrência a oviposição, eletrofisiologia, inseticidas botânicos, limoneno

DETERMINATION STUDY OF OVIPOSITION AND ELETROANTENOGRAPHY OF
Alabama argillacea (HÜBNER, 1823) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE) TO ESSENTIAL OILS
AND CHEMICAL COMPOUNDS

ABSTRACT – Gaseous Chromatography coupled to electroanthenographic (GC-EAD) detection has allowed to trace possible constituents of an essential oil, which may be associated to a particular behavioral response of an insect, whether these major or minor compounds. In this case, the present work aimed to evaluate the deterrent activity of the essential oils of *Mentha spicata*, *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia* and *Juniperus virginiana* on the oviposition of *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebiidae), an important cotton pest (*Gossypium hirsutum* L.); besides using the technique of GC-EAD to detect the constituents of these oils that are perceived by the females and to test their bioactivity. In the preference tests for oviposition, only the essential oil of *M. spicata* showed deterrent activity to *A. argillacea*. GC-EAD analyzes revealed that three essential oil compounds of *M. spicata* triggered the depolarization of *A. argillacea* females, being limonene, carvone and E-caryophyllene. In the bioassays with the three compounds, only the limonene caused a deterrent action of oviposition, indicating that the bioactivity presented by the oil of *M. spicata* to *A. argillacea*, may be due to the action of this compound. Thus, we can conclude that among the compounds tested, limonene showed prominence for triggering the depolarization of the *A. argillacea* antennas and provoking a deterrent action on the oviposition of this insect, showing that the bioactivity of the *M. spicata* oil is due to the action of this compound, in addition the concentration used did not present phytotoxicity.

KEY WORDS: Cotton leafworm, oviposition deterrents, botanical insecticides, electrophysiology
limonene

Introdução

Alabama argillacea (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) é uma importante praga do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), sendo considerada a principal lagarta desfolhadora desta cultura. Sua ocorrência pode resultar em grandes perdas de produtividade, principalmente quando a infestação é nas primeiras fases de desenvolvimento da planta (Nascimento *et al.* 2011, Ramalho *et al.* 2014).

Seu controle tem sido realizado principalmente com inseticidas sintéticos, tais como piretroides e organofosforados (Silva *et al.* 2011, Silva *et al.* 2011, Boiça Junior *et al.* 2012); mesmo sendo potencialmente prejudiciais para os seres humanos, inimigos naturais e o meio ambiente (Bastos *et al.* 2006, Ansari *et al.* 2014, Nicolopoulou-Stamati *et al.* 2016). Tem-se buscado alternativas de controle que sejam eficientes, menos prejudiciais ao ambiente e que apresentem baixa toxicidade aos vertebrados (Vieira *et al.* 2004, Regnault-Roger *et al.* 2012, Madbouly *et al.* 2015). Desta forma, os óleos essenciais têm se destacado devido a sua ação inseticida já comprovada para inúmeras pragas de importância agrícola (Pavela 2005, Jiang *et al.* 2009, Ribeiro *et al.* 2015, Cruz *et al.* 2016).

Esses óleos são produtos do metabolismo secundário, encontrados em diversas famílias botânicas de plantas, tais como Myrtaceae, Lauraceae, Piperaceae, Rutaceae, Lamiaceae, Cupressaceae, entre outras (Bakkali *et al.* 2008, Rajendran & Sriranjini 2008, Tripathi *et al.* 2009). São constituídos de uma mistura complexa de compostos químicos, cujo número e quantidade podem variar a depender da espécie, de fatores edafoclimáticos e fitossanitários da planta (Gobbo-Neto & Lopes 2007, Bakkali *et al.* 2008, Si *et al.* 2012). Esta diversidade de compostos químicos presentes nos óleos, tem possibilitado obter diferentes tipos de repostas sobre os insetos; resultando na mortalidade, inibição da oviposição, redução no desenvolvimento larval, fecundidade, fertilidade, repelência, entre outros efeitos biológicos e fisiológicos (Martinez & Van Emden 2001, Ko *et al.* 2009, Cruz *et al.* 2014).

Apesar dessa diversidade de compostos químicos presentes nos óleos essenciais, geralmente, os estudos se limitam aos compostos majoritários e por isso, frequentemente, os minoritários acabam por serem negligenciados quanto a sua bioatividade (Campbell *et al.* 2011, McCormick *et al.* 2014, Silva *et al.* 2015). Neste caso, para estudos comportamentais de insetos, a cromatografia gasosa (CG) acoplada à detecção eletroantegráfica (EAD) tem auxiliado na descoberta de compostos bioativos, com ação atraente; alvo principal dos estudos envolvendo feromônios de insetos (Rojas *et al.* 2006, Blassioli Moraes *et al.* 2016, Yan *et al.* 2018), e com potencial repelente; mas comumente investigados em óleos essenciais (Yang *et al.* 2009, Zhang *et al.* 2013, Uniyal *et al.* 2014).

Para isso, o CG separa os constituintes de uma matriz complexa (óleo essencial); enquanto que EAD capta as respostas totais das células receptoras da antena do inseto, mediante a despolarização da membrana neural, ocasionada pela ligação dos estímulos a seus receptores (Schiestl & Marion-Poll 2002, Gullan & Cranston 2012, Cribb & Merritt 2013).

Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a atividade deterrente dos óleos essenciais de *Mentha spicata* L. (Lamiaceae), *Litsea cubeba* (Lour.) Pers., (Lauraceae), *Melaleuca alternifolia* Cheel (*Myrtaceae*) e *Juniperus virginiana* L. (*Cupressaceae*) e os compostos químicos S-(-)-limoneno, E-cariofileno e L-carvona sobre a oviposição de *A. argillacea*. Vale ressaltar, que estas espécies de plantas já possuem seus efeitos deterrentes ou tóxicos comprovados para uma série de insetos de importância urbana e agrícola (Pavela 2005, Amer & Mehlhorn 2006, Jiang *et al.* 2009, Ko *et al.* 2009, Benelli *et al.* 2013), mas seus efeitos em *A. argillacea* nunca foram testados.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Fisiologia de Insetos do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal/DMFA, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE),

e no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Criação de *Alabama argillacea*. Os insetos foram obtidos da criação estoque do Laboratório de Fisiologia de Insetos do Departamento de Fisiologia e Morfologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Estes foram mantidos à temperatura de $25,2 \pm 1,4$ °C, umidade relativa de $67 \pm 0,7\%$ e fotofase de 12h. As lagartas foram alimentadas diariamente com folhas de algodão cultivar BRS safira. Os adultos foram mantidos em gaiola de PVC com dimensões de 15 cm de diâmetro com 20 cm de altura, revestidas internamente com papel sulfite, como substrato para oviposição. A alimentação dos adultos foi feita com solução de mel a 10% e uma mistura de levedura e mel na proporção de 1:1.

Obtenção dos Óleos Essenciais e Compostos Químicos. Os óleos essenciais de *M. spicata*, *L. cubeba*, *M. alternifolia* e *J. virginiana* foram obtidos da Empresa Ferquima Ind. e Com. Ltda. (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil). Extraídos a partir de folhas de *M. spicata* e *M. alternifolia*, dos frutos de *L. cubeba* e da madeira de *J. virginiana*. As informações técnicas desses produtos e seus parâmetros de qualidade (coloração, pureza, odor, densidade a 20 °C e índice de refração a 20 °C) são descritos em relatório técnico fornecido pela empresa, conforme site <<http://www.ferquima.com.br>>.

Limoneno e carvona possuem enantiômero que ocorrem naturalmente. As análises químicas dos óleos testados na presente pesquisa, não revelaram quais dos enantiômeros constituem o perfil químico do óleo de *M. spicata*. Neste caso, a escolha dos enantiômeros destes compostos foram com base na literatura, na qual, mostraram que o S-(-)-limoneno (Aggarwal *et al.* 2002, Maróstica Júnior & Pastore 2007, Srividya *et al.* 2015) e o R-(-)-carvona (L-carvona) (Aggarwal *et al.* 2002, Buchbauer *et al.* 2005, Gonçalves *et al.* 2008, Souza *et al.* 2013, Nogoceke *et al.* 2016) fazem parte da constituição química do óleo de *M. spicata*. Para o cariofileno as análises cromatográficas

revelaram que o (*E*)-cariofileno está presente na constituinte do óleo de *M. spicata*. Esses três compostos foram obtidos junto à Sigma Aldrich® Brasil, todos tendo pureza acima de 98%.

Análises químicas dos óleos essenciais. Os óleos essenciais de *M. spicata*, *L. cubeba*, *M. alternifolia* e *J. virginiana* foram analisados qualitativamente por cromatografia a gás acoplada à espectrometria CG/EM de massas em um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series CG/EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0.25 mm d.i., 0,25 µm espessura da película). Uma alíquota de 1 µL da solução (2000 µg/mL) de cada óleo essencial preparada em hexano foi injetada em split 1:50, assim como uma solução hexânica da mistura de padrões de hidrocarbonetos: C8-C30 (Sigma-Aldrich®). A temperatura do cromatógrafo gasoso foi ajustada em 60 °C por 3 min, sendo então elevada em 2,5 °C min⁻¹ até alcançar 240 °C e mantida nesta temperatura por 10 min. O fluxo de hélio foi mantido em pressão constante de 100 kPa. A interface da espectrometria de massas foi definida em 200 °C e os espectros de massa registrados em 70 eV (em modo EI) com uma velocidade de escaneamento de 0,5 scan-s de m/z 20-350 (Santos *et al.* 2014). Os constituintes do óleo essencial foram quantificados através da Cromatografia Gasosa (CG) em um sistema Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA) Trace CG Ultra gás equipado com um detector de ionização por chama (DIC), com uma coluna HB-5 (30 m x 0,25 mm d.i., 0,25 µm de espessura da película). A temperatura do forno foi mantida a 40 °C durante 2 min e depois aumentada a 4 °C min⁻¹ para 230 °C. O injetor e o detector foram mantidos a 250 °C. Para realizar a quantificação, 1 µL da solução (2000 µg/mL) de cada óleo essencial preparada em hexano foi injetada em splitless. A composição de cada componente foi expressa na forma de percentagens da área total do pico conforme registrado por GC-FID.

Identificação Química dos Óleos Essenciais. Os Índices de Retenção (IR) de cada componente dos óleos essenciais foram calculados segundo a equação de Van den Dool & Kratz (1963), de acordo com

os tempos de retenção dos componentes da amostra de cada óleo essencial, do padrão de hidrocarboneto (C8-C30) e da combinação de cada óleo essencial com a mistura deste padrão. Os componentes de cada óleo essencial foram previamente identificados por similaridade dos valores dos índices de retenção (IR) e posteriormente confirmados por comparação dos respectivos espectros de massa com aqueles disponíveis na biblioteca do GC/EM: MassFinder 4, NIST08 e Wiley Registry™ 9th Edition e com os descritos por Adams (2009).

Testes de Fitotoxicidade. Objetivando avaliar a fitotoxicidade dos óleos essenciais e dos compostos químicos que apresentaram respostas nas análises de CG-EAD. Realizou-se um ensaio preliminar utilizando as concentrações de 2000 e 2500 mg/L dos óleos essenciais de *M. spicata*, *L. cubeba*, *M. alternifolia*, *J. virginiana* e as concentrações de 299 mg/L do S-(-)-limoneno; 17,8 mg/L do (*E*)-cariofileno; 1131,15 mg/L e 1508,2 mg/L do L-carvona. As concentrações destes compostos foram baseadas na quantidade relativa destes constituintes presentes em 2000 mg do óleo essencial de *M. spicata*, conforme análise cromatográfica. Os óleos essenciais e os compostos foram diluídos em água destilada mais Dimetilsulfóxido (DMSO) a 2%. Discos foliares de 4 cm de diâmetro foram confeccionados a partir de plantas de algodão cultivar BRS. Estes foram submersos durante dez segundos nas concentrações dos óleos essenciais e compostos e posteriormente colocados para secar sobre papel toalha. A fitotoxicidade foi avaliada após 60 min da aplicação, a partir das alterações visuais na coloração do tecido foliar, indicando ação fitotóxica.

Ensaio de Oviposição. Testes de preferência para oviposição com chance de escolha, foram montados utilizando os óleos essenciais de *M. spicata*, *L. cubeba*, *M. alternifolia* e *J. virginiana* na concentração de 2000 mg/L do óleo. Para os compostos foram utilizados as concentrações de 299 mg/L do S-(-)-limoneno; 17,8 mg/L do (*E*)-cariofileno e 1131,15 mg/L do L-carvona (tanto para os óleos como para os compostos foram utilizadas as concentrações que não ocasionaram fitotoxicidade). Sendo utilizados ponteiros de plantas de algodão da variedade BRS safira. As

aplicações das concentrações foram feitas mediante auxílio de um pulverizador manual com capacidade de 2 litros. Após secos, os ponteiros foram acondicionados em tubos de vidro com capacidade de 150 mL contendo água e colocados no interior de gaiolas com dimensões de 0,4 m x 0,4 m x 0,4 m. Em cada gaiola foi colocado um ponteiro tratado (óleo essencial ou composto químico mais água destilada mais DMSO 2%) e um outro sendo o controle (aplicado somente água destilada mais DMSO 2%). Foram utilizadas dez gaiolas, cada uma constituindo uma repetição. Em cada repetição foram liberados dois casais de *A. argillacea*, machos e fêmeas eram pareados após a emergência e permaneciam por três a quatro dias antes de serem liberados nas gaiolas, como forma de estimular a oviposição. Após 48 horas, contabilizou-se o número de ovos em cada tratamento.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade e as médias comparadas pelo teste t pareado ao nível de 5% de significância utilizando o programa SAS (SAS Institute. 2002).

Análises Eletrofisiológicas (CG-EAD). As análises de CG-EAD foram realizadas com o objetivo de detectar constituintes do óleo essencial que despolarizam as antenas de fêmeas de *A. argillacea*. O CG-EAD consiste de um cromatógrafo gasoso (Trace™ GC Ultra, Thermo Scientific, Milão, Itália) equipado com um detector de ionização de chama (DIC), um EAD Syntech (Kirchzarten, Alemanha), um controlador de aquisição de barramento serial universal de dois canais e um VICI Metronics (Poulsbo, WA, EUA) Coluna capilar VB-5-ValcoBond® (30 m x 0,25 mm d.i. e uma espessura de filme de 0,25 µm) (Milet-Pinheiro *et al.*, 2015). A saída da coluna foi acoplada a dois comprimentos de capilar desativado (40 cm x 0,25 mm d.i.) através de um T divisor SGE Analytical Science (Trajano, Melbourne, VIC, Austrália). Um capilar levou ao DIC, enquanto o outro foi encaminhado para fora do forno do GC através de uma linha de transferência aquecida e para um tubo de vidro onde o efluente foi misturado com um fluxo de ar limpo e umidificado e direcionado

sobre a preparação da antena. Foi utilizado o nitrogênio como gás de arraste na coluna e mantido a um fluxo constante de 1 mL/min. A temperatura do injetor foi fixada em 200 °C e uma alíquota de 1 µL da solução hexânica do óleo (2µL/mL) foi injetada no modo sem divisão com a temperatura do forno de 60 °C, que foi mantida por 1 min. A temperatura do forno foi então aumentada para 210 °C a 10 °C /min e mantida a 210 °C por 1 min. A fim de preparar as antenas de insetos, fêmeas de *A. argillacea* de 1 a 2 dias de idade foram retiradas diretamente da criação estoque. Para cada preparação, uma antena foi cortada na base e na ponta e montada entre dois eletrodos, que foram preenchidos com solução de Ringer (8,0 g/L cloreto de sódio, 0,4 g/L cloreto de potássio, 0,4 g/L cloreto de cálcio), e dois eletrodos de fio de prata foram inseridos em cada capilar, fechando assim o circuito elétrico com a preparação da antena. No total, foram montadas 30 antenas de diferentes indivíduos, dos quais apenas dez foram estáveis o suficiente para detectar respostas. Um constituinte de óleo essencial foi considerado ativo por EAD quando desencadeou uma resposta de despolarização em pelo menos cinco das preparações da antena.

Resultados

Análises Químicas dos Óleos Essenciais. Foram identificados um total de 16 componentes químicos para o óleo essencial de *M. spicata*, 20 para *L. cubeba*, 30 para *M. alternifolia* e 39 para *J. virginiana*, o que corresponde a 98,08%, 98,13%, 98,69% e 98,06% dos componentes presentes nestes óleos essenciais, respectivamente (Tabela 1). Estes componentes são pertencentes aos monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados. No caso do óleo essencial de *M. spicata*, os seus constituintes são pertencentes aos monoterpenos (17,06%), monoterpenos oxigenados (80,13%) e sesquiterpenos (0,89%). Seus componentes majoritários são o limoneno (14,95%) e carvona (75,41%). Em *L. cubeba* os seus constituintes são pertencentes aos monoterpenos (11,9%), monoterpeno oxigenados (84,18%), sesquiterpenos (1,83%) e sesquitermos

oxigenados (0,22%). Os componentes majoritários são limoneno (9,93%), Neral (32,52%) e Geranial (44,68%). Os constituintes do óleo essencial de *M. alternifolia* são pertencentes aos monoterpenos (38,98%), monoterpenos oxigenados (53,72%), sesquiterpenos (5,82%) e sesquiterpenos oxigenados (0,17%). Tendo como componentes majoritários são o α -terpineol (4,18%), α -terpineno (8,77%), γ -terpineno (18,60%) e terpinen-4-ol (47,24%). Já para o óleo essencial de *J. virginiana* os seus constituintes são pertencentes aos sesquiterpenos (69,79%) e sesquiterpenos oxigenados (28,3%). Os componentes majoritários são o β -cedrene (4,31%), α -cedrene (18,49%), cedrol (25,61%) e (*Z*)-thujopsene (31,94%).

Testes de Fitotoxicidade. Os testes de fitotoxicidade dos óleos essenciais de *M. spicata*, *L. cubeba*, *M. alternifolia*, *J. virginiana*, mostraram que estes óleos não apresentaram ação fitotóxica na concentração de 2000 mg/L. Entretanto, quando os discos foliares foram submetidos a concentração de 2500 mg/L, todos os óleos essenciais apresentaram fitotoxicidade (Fig. 1). As concentrações de 299 mg/L do S-(-)-limoneno; 17,8 mg/L do (*E*)-cariofileno e 1131,15 mg/L do L-carvona não provocaram fitotoxicidade. Entretanto, para a concentração de 1508,2 mg/L do L-carvona, houve uma ação fitotóxica deste composto (Fig. 2), inviabilizando a utilização desta concentração para os testes de preferência para oviposição.

Bioensaios de Oviposição e Eletrofisiologia. Nos testes de preferência para oviposição com chance de escolha, apenas o óleo essencial de *M. spicata* apresentou atividade deterrente sobre *A. argillacea*. Enquanto que nos tratamentos com óleos essenciais de *L. cubeba*, *M. alternifolia*, *J. virginiana* não houve diferença no número médio de ovos em relação ao controle (Fig. 3).

As análises de GC-EAD As análises de CG-EAD revelaram que três compostos do óleo essencial de *M. spicata* desencadearam a despolarização das antenas das fêmeas de *A. argillacea*, sendo os dois monoterpenos limoneno e carvona e o sesquiterpeno (*E*)-cariofileno (Fig. 4). Nos testes de preferência para oviposição com os compostos que desencadearam despolarização nas antenas

das fêmeas de *A. argillacea*, apenas o S-(-)-limoneno apresentou deterrência a oviposição, enquanto que o L-carvona e o (E)-cariofileno não diferiram do controle (Fig. 5).

Discussão

A diversidade de compostos encontrados nos óleos essenciais tem possibilitado obter diferentes tipos de respostas biológicas sobre insetos, microorganismo e plantas (Bakkali *et al.* 2008, Regnault-Roger *et al.* 2012, Amri *et al.* 2013). Neste último caso, os óleos essenciais podem provocar fitotoxicidade em plantas tratadas, como resultado da afinidade com as camadas lipídicas das membranas biológicas, podendo afetar inúmeros processos fisiológicos e bioquímicos (Amri *et al.* 2013; Ahuja *et al.* 2015, Synowiec *et al.* 2017).

Esta bioatividade pode provocar alterações visíveis nos tecidos foliares, como consequência da ruptura da membrana, redução no teor de clorofila e respiração celular (Poonpaiboonpipat *et al.* 2013, Kaur *et al.* 2010). Por isso, os testes de fitotoxicidade envolvendo óleos essenciais e compostos químicos, são importantes para determinar se a concentração a ser utilizada sobre um organismo, não provocará efeitos indesejáveis a planta.

Neste caso, é provável que o carvona presente no óleo de *M. spicata*, possa estar interagindo com os outros constituintes do óleo reduzindo a sua ação fitotóxica, fato não observado quando o L-carvona foi testado de forma isolada. Os componentes químicos quando testados em conjunto, podem interagir entre si de forma a potencializar ou reduzir uma atividade biológica (Hummelbrunner & Isman 2001, Abbassy *et al.* 2009, Bassolé & Juliani 2012).

O óleo essencial de *M. spicata* tem apresentado ação tóxica e deterrente a oviposição comprovada para inúmeros insetos de importância agrícola e urbana, tais como *Callosobruchus chinensis* (L.), *Spodoptera littoralis* (Boisd.), *Culex pipiens* L. e *Rhodnius prolixus* Stål (Kedia *et al.*

2014, Pavela 2005, Koliopoulos *et al.* 2010, Sainz *et al.* 2012); este óleo também apresentou ação deterrente a oviposição a *A. argillacea*, o que ressalta o seu potencial para o controle de pragas.

As análises de CG-EAD da presente pesquisa, permitiram rastrear três constituintes do óleo de *M. spicata* que desencadearam respostas nas antenas das fêmeas de *A. argillacea*, sendo estes (*E*)-cariofileno, limoneno e o carvona. O cariofileno é um sesquiterpeno encontrado em diversos óleos essenciais como componente majoritário (Park *et al.* 2007, Liu *et al.* 2007, Almeida *et al.* 2013, Silva *et al.* 2015) e minoritário (Park *et al.* 2007, Almeida *et al.* 2010, Govindarajan *et al.* 2012, Benelli *et al.* 2013). Sendo relatado também como constituinte volátil de plantas de algodão (Magalhães *et al.* 2018). Testes realizados por Burguiere *et al.* 2001 e Cribb *et al.* 2007 utilizando a técnica de EAD, mostraram que as antenas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) responderam ao composto (*E*)-cariofileno, entretanto, estes autores não investigaram as respostas comportamentais associada a esta percepção. Sun *et al.* (2012) também relatou que as antenas de *Helicoverpa assulta* (Guenée) responderam ao (*E*)-cariofileno e a outros oitos compostos presentes em voláteis de plantas de tabaco, *Nicotiana tabacum* L., nos testes comportamentais os autores concluíram que a mistura dos compostos acetato de Z-3-hexenila, nonanal, (*E*)- β -ocimene e (*E*)-cariofileno foram essenciais para a atratividade de fêmeas de *H. assulta*. Nehme *et al.* (2009) estudando a bioatividade de compostos químicos sobre *Anoplophora glabripennis* (Motschulsky), mostraram que o (*E*)-cariofileno atraiu mais machos do que fêmeas nos ensaios de olfatometria em “Y”. Em contrapartida, Cao *et al.* (2018) relataram que o (*E*)-cariofileno apresentou uma forte repelência (>80%) a *Tribolium castaneum* (Herbst) e *Liposcelis bostrychophila* Badonnel; já para *Lasioderma serricorne* (Fabricius) este composto apresentou uma repelência moderada (<57%), inclusive em concentrações mais baixas, o β -cariofileno apresentaram atratividade a este inseto.

O composto carvona é um monoterpene encontrado em diversos óleos essenciais de plantas (Toxopeus & Bouwmeester 1993, Moon *et al.* 2011, Ma *et al.* 2015, Lima *et al.* 2016). Este

composto apresenta duas formas naturais de enantiômeros, o (-)-carvona, encontrados em *M. spicata*; e o (+)-carvona, presente em *Carum carvi* L (Apiaceae). (Ravid *et al.* 1987, Buchbauer *et al.* 2005, Souza *et al.* 2013, Nogoceke *et al.* 2016). Ambos os enantiômeros têm apresentado atividade biológica em inseto (Caballero-Gallardo *et al.* 2011). Testes utilizando CG-EAD em *Halyomorpha halys* (Stål), mostraram que o L-carvona presente no óleo de *M. spicata* desencadeou resposta; nos bioensaios de comportamento utilizando armadilhas contendo atrativo (feromônio), este composto provocou uma diminuição na captura de *H. halys* quando associado ao atrativo (Zhang *et al.* 2014). Yang *et al.* (2009) também relataram que as antenas de *Riptortus clavatus* (Thunberg) responderam ao carvona presente no óleo de *C. carvi* nos testes de CG-EAD e, em ensaios comportamentais, este composto provocou uma ação repelente a este inseto. Já Moon *et al.* (2011) observaram que as antenas de ninfas do quarto ínstar e adultos de *Lycorma delicatula* (White) responderam ao carvona a partir de testes de CG-EAD e que esse composto apresentou atratividade para ninfas e fêmeas adultas em ensaios comportamentais.

O composto limoneno, monoterpeneo mais abundante na natureza, é encontrado nas duas formas de enantiômeros, S-(-)-limoneno e o R-(+)-limoneno (Maróstica Júnior & Pastore 2007). O S-(-)-limoneno está presente em *M. spicata* (Aggarwal *et al.* 2002, Maróstica Júnior & Pastore 2007, Srividya *et al.* 2015), enquanto que R-(+)-limoneno está presente nos óleos essenciais de citrus (Maróstica Júnior & Pastore 2007). Seo *et al.* (2009) também identificaram uma maior quantidade relativa de R-(+)-limoneno (14,30%) no óleo essencial de *L. cubeba*, enquanto que S-(-)-limoneno representou apenas 0,34%. Além disso, o limoneno também foi identificado como componente voláteis de plantas de algodão (Magalhães *et al.* 2018). Borrero-Echeverry *et al.* (2015) mostraram que antenas de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) responderam ao composto R-(+)-limoneno presentes em voláteis de plantas de algodão através de teste de CG-EAD, sendo observado uma atratividade a machos e fêmeas quando se formou uma blend com nonanal, Z-3hexenylacetate, E- β -ocimene e R-

(+)-limoneno. Yang *et al.* (2009) observaram que as antenas de *R. clavatus* responderam ao limoneno presente no óleo de *C. carvi* nos testes de CG-EAD, este composto também apresentou ação repelente a este inseto nos bioensaios. Campbell *et al.* (2011) analisando 11 óleos essenciais através de CG-EAD em *Aedes aegypti* L., observaram 42 respostas de compostos químicos, entre estes estão presentes o β -cariofileno e o limoneno. Estes autores testaram o blend dos compostos que desencadearam a despolarização da antena deste inseto, inclusive, testaram enantiômeros específicos. Os autores observaram que para o limoneno, somente o enantiômero S-(-)-limoneno desencadeou resposta na antena, enquanto o R-(+)-limoneno não foi detectado.

Assim, podemos concluir que dentre os compostos testados, o limoneno apresentou destaque por desencadear a despolarização das antenas de *A. argillacea* e provocar uma ação deterrente a oviposição desse inseto, mostrando que a bioatividade do óleo de *M. spicata* se dá pela ação desse composto, além disso, a concentração utilizada não apresentou fitotoxicidade.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da pesquisa e ao Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química Fundamental- UFPE.

Literatura Citada

- Abbassy, M.A., S.A.M. Abdelgaleil & R.Y.A. Rabie. 2009.** Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. *Entomol. Exp. Appl.* 131: 225-232.
- Adams, R.P. 2009.** Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4^o ed. Allured Publishing Co., Carol Stream, IL, 469p.
- Aggarwal, K. K., S.P.S. Khanuja, A. Ahmad, T.R.S. Kumar, V.K. Gupta & S. Kumar. 2002.** Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. *Flavour. Fragr. J.* 17: 59-63.

- Ahuja, N., H.P. Singh, D.R. Batish & R.K. Kohli. 2015.** Eugenol-inhibited root growth in *Avena fatua* involves ROS-mediated oxidative damage. *Pest. Biochem. Physiol.* 118: 64-70.
- Almeida, R.P., C.A.D. Silva & F.S. Ramalho. 2008.** Manejo integrado de pragas do algodão, p.1034-1098. In N.E.M. Beltrão & D.M.P. Azevedo (eds.), *O Agronegócio do Algodão no Brasil*, 2º ed. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 742p.
- Almeida, L.F.R., F.Frei, E. Mancini, L. Martino & V. Feo. 2010.** Phytotoxic Activities of Mediterranean Essential Oils. *Molecules* 15: 4309-4323.
- Almeida, T.S., J.T. Rocha, F.F.G. Rodrigues, A.R. Campos & J.G.M. Costa. 2013.** Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. *Ind. Crops Prod.* 44: 630-633.
- Amer A. & H. Mehlhorn. 2006.** Larvicidal effects of various essential oils against. *Parasitol. Res.* 99: 466-472.
- Amri, I., L. Hamrouni, M. Hanana & B. Jamossi. 2013.** Reviews on phytotoxic effects of essential oils and their individual components: News approach for weeds management. *Int. J. Appl. Biol. Pharm.* 4: 96-114.
- Ansari, M.S., M.A. Moraiet & S. Ahmad. 2014.** Insecticides: Impact on the environment and human health, p. 99-123. In A. Malik, E. Grohmann & R. Akhtar (eds.), *Environmental deterioration and human health: Natural and anthropogenic determinants*. New York, Springer, 421p.
- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck & M. Idaomar. 2008.** Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.* 46: 446-475.
- Bassolé, I.H.N. & H.R. Juliani. 2012.** Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 17: 3989-4006.
- Bastos, C.S., R.P. Almeida & F.A. Suinaga. 2006.** Selectivity of pesticides used on cotton (*Gossypium hirsutum*) to *Trichogramma pretiosum* reared on two laboratory-reared hosts. *Pest. Manag. Sci.* 62: 91-98.
- Benelli G., A. Canale, G. Flamini, P.L. Cioni, F. Demi, L. Ceccarini, M. Macchia & B. Contia. 2013.** Biototoxicity of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) essential oil against the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and its parasitoid *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae). *Ind. Crops Prod.* 50: 596-603.
- Blassioli Moraes, M.C., M. Borges, A.R. Viana, R.A. Laumann, J.E. Miranda, D.M. Magalhães & M.A. Birkett. 2016.** Identification and field evaluation of the sex pheromone of a Brazilian population of *Spodoptera cosmioides*. *Pesqu. Agropec. Bras.* 51: 545-554.

- Boiça Junior, A.L., F.G.J. Jesus, J.C. Janini, A.G. Silva & G.C.S. Alves. 2012.** Resistência de variedades de algodão ao curuquerê do algodoeiro *Alabama argillacea* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Ceres 59: 48-55.
- Borrero-Echeverry, F., P.G. Becher, G. Birgersson, M. Bengtsson, P. Witzgall & A.M. Saveer. 2015.** Flight attraction of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera, Noctuidae) to cotton headspace and synthetic volatile blends. Front. Ecol. Evol. 3: 1-7.
- Bougherra, H.H., S. Bedini, G. Flamini, F. Cosci, K. Belhamel & B. Conti. 2015.** Pistacia lentiscus essential oil has repellent effect against three major insect pests of pasta. Ind. Crops Prod. 63: 249-255.
- Buchbauer, G., W. Jäger, A. Gruber & H. Dietrich. 2005.** R- (+)- and S- (-)- carvone: influence of chirality on locomotion activity in mice. Flavour Fragr. J. 20: 686-689.
- Burguiere, L., F. Marion-Poll & A. Cork. 2001.** Electrophysiological responses of female *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera; Noctuidae) to synthetic host odours. J. Insect. Physiol. 47: 509-514.
- Caballero-Gallardo, K., J. Olivero-Verbel & E.E. Stashenko. 2011.** Repellent Activity of Essential Oils and Some of Their Individual Constituents against *Tribolium castaneum* Herbst. J. Agric. Food Chem. 59: 1690-1696.
- Campbell, C., R. Gries & R. Gries. 2011.** Forty two compounds in eleven essential oils elicit antennal responses from *Aedes aegypti*. Entomol. Exp. Appl. 138: 21-32.
- Cao, J.Q., S.S. Guo, Y. Wang, X. Pang, Z.F. Geng, S.S. Du. 2018.** Toxicity and repellency of essential oil from *Evodia lenticellata* Huang fruits and its major monoterpenes against three stored-product insects. Ecotox. Environ. Safe. 160: 342-348.
- Cribb B.W & DJ. Merritt. 2013.** Chemoreception, p. 771-792. In S.J. Simpson & A.E. Douglas (eds). The insects: structure and function, 5^o ed. Cambridge, Cambridge University Press, 929p.
- Cribb, B.W., C.D. Hull, C.J. Moore, J.P. Cunningham & M.P. Zalucki. 2007.** Variability in odour reception in the peripheral sensory system of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Aust. J. Entomol. 46: 1-6.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, F.S.C. Lopes, D.R.S. Barbosa, M.O. Breda, K.A. Dutra, C.A. Guedes, D.M.A. F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2016.** Sublethal effects of essential oils from *Eucalyptus staigeriana* (Myrtales: Myrtaceae), *Ocimum gratissimum* (Lamiales: Lamiaceae), and *Foeniculum vulgare* (Apiales:Apiaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econo. Entomol. 109: 660-666.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, A.A. Correia, M.O. Breda, T.J.S. Alves, F.M. Cunha, A.A.C. Teixeira, K.A. Dutra & D.M.A.F. Navarro. 2014.** Bioactivity of *Piper hispidinervum* (Piperales: Piperaceae) and *Syzygium aromaticum* (Myrtales: Myrtaceae) oils,

with or without formulated Bt on the biology and immunology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 107:144-153.

Gobbo-Neto, L. & N.P. Lopes. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quím. Nova. 30: 374-381.

Gonçalves, J.C.R., F.S. Oliveira, R.B. Benedito, D.P. Sousa, R.N. Almeida & D.A.M. Araújo. 2008. Antinociceptive activity of (-)-carvone: evidence of association with decreased peripheral nerve excitability. Biol. Pharm. Bull. 31: 1017-1020.

Govindarajan, M., R. Sivakumar, M. Rajeswari & K. Yogalakshmi. 2012. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. Parasitol. Res. 110: 2023-2032.

Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2012. Os insetos: um resumo de entomologia. São Paulo, Roca Editora, 440p.

Hummelbrunner, L.A. & M.B. Isman. 2001. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpene essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). J. Agric. Food Chem. 49: 715-720.

Jiang, Z., Y. Akhtar, R. Bradbury, X. Zhang & M.B. Isman (2009). Comparative toxicity of essential oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and blends of their major constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. J. Agric. Food Chem. 57: 4833-4837.

Kaur, S., H.P. Singh, S. Mittal, D.R. Batish & R.K. Kohli. 2010. Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. Ind. Crops and Prod. 32: 54-61.

Kedia, A., B. Prakash, P.K. Mishra, C.S. Chanotiya & N.K. Dubey. 2014. Antifungal, antiaflatoxic, and insecticidal efficacy of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil. Int. Biodeter. Biodegr. 89: 29-36.

Ko, K., W. Juntarajumnong & A. Chandrapatya. 2009. Repellency, fumigant and contact toxicities of *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). Kasetsart J. (Nat. Sci.) 43: 56-63.

Koliopoulos, G., D. Pitarokili, E. Kioulos, A. Michaelakis & O. Tzakou. 2010. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. Parasitol. Res. 107:327-335.

Lima, A.S., J.F. Carvalho, M.G. Peixoto, A.F. Blank, L.M.F. Borges & L.M. Costa Júnior. 2016. Assessment of the repellent effect of *Lippia alba* essential oil and major monoterpenes on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. Med. Vet. Entomol. 30: 73-77.

Liu, L., G. Song, Y. Hu. 2007. GC-MS analysis of the essential oils of *Piper nigrum* L. and *Piper longum* L. Chromatographia 66: 785-790.

- Ma, B, X. Ban, B. Huang, J. He, J. Tian, H. Zeng, Y. Chen & Y. Wang. 2015.** Interference and mechanism of dill seed essential oil and contribution of carvone and limonene in preventing sclerotinia rot of rapeseed. *Plos One* 10: e0131733.
- Madbouly, S.A., C. Zhang & M. R. Kessler. 2015.** Bio-based plant oil polymers and composites. Elsevier Inc., Oxford, UK, 213p.
- Magalhães, D.M., M. Borges, R.A. Laumann & M.C.B. Moraes. 2018.** Influence of multiple- and single- species infestations on herbivore- induced cotton volatiles and *Anthonomus grandis* behaviour. *J. Pest. Sci.* 91: 1019-1032.
- Maróstica Júnior, M.R. & G.M. Pastore. 2007.** Biotransformação de limoneno: uma revisão das principais rotas metabólicas. *Quim. Nova* 30: 382-387.
- Mccormick A.C., J. Gershenzon & S.B. Unsicker. 2014.** Little peaks with big effects: establishing the role of minor plant volatiles in plant-insect interactions. *Pl. Cell Environ.* 37: 1836-1844.
- Milet-Pinheiro, P., D.M.A. Navarro, N.C. Aquino, L.L. Ferreira, R.F. Tavares, R.C.C. Silva, A. Lima-Mendonça, L. Vaníčková, A.L. Mendonça & R.R. Nascimento. 2015.** Identification of male-borne attractants in *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Chemoecology* 25:115-122.
- Martinez, S.S. & H.F. Van Emden. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by Azadirachtin. *Neotrop. Entomol.* 30: 113-125.
- Moon, S.R., S.R. Cho, J.W. Jeong, Y.H. Shin, J.O. Yang, K.S. Ahn, C. Yoon & G.H. Kim. 2011.** Attraction response of spot clothing wax cicada, *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae) to spearmint oil. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 54: 558-567.
- Nascimento, A.R.B, F.S. Ramalho, T.L. Azeredo, F.S. Fernandes, J.L Nascimento Júnior, C.A.D. Silva & J.B. Malaquias. 2011.** Feeding and life history of *Alabama argillacea* (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton cultivars producing colored fibers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 104: 613-619.
- Nehme, M.E., M.A. Keena, A. Zhang, T.C. Baker & K. Hoover. 2009.** Attraction of *Anoplophora glabripennis* to male-produced pheromone and plant volatiles. *Ecol. Entomol.* 38: 1745-1755.
- Nicolopoulou-Stamati P., S. Maipas, C. Kotampasi, P. Stamatis & L. Hens. 2016.** Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Front. Public Health* 4: 1-8.
- Nogocekea, F.P., I.M.R. Barcaro, D.P. Sousa & R. Andreatinia. 2016.** Antimanic-like effects of (R)-(-)-carvone and (S)-(+)-carvone in mice. *Neurosci. Lett.* 619: 43-48.

- Park, I.K., J. Kim, S.G. Lee & S.C. Shin. 2007.** Nematicidal activity of plant essential oils and components from ajowan (*Trachyspermum ammi*), allspice (*Pimenta dioica*) and litsea (*Litsea cubeba*) essential oils against pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *J. Nematol.* 39: 275-279.
- Pavela, R., 2005.** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia* 76: 691-696.
- Poonpaiboonpipat, T., U. Pangnakorn, U. Suvunnamek, M. Teerarak, P. Charoenying & C. Laosinwattana. 2013.** Phytotoxic effects of essential oil from *Cymbopogon citratus* and its physiological mechanisms on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). *Ind. Crops Prod.* 41: 403-407.
- Ramvalho, F.S., J.K.S. Pachú, A.C.S. Lira, J.B. Malaquias, J.C. Zanuncio & F.S. Fernandes. 2014.** Feeding and dispersal behavior of the cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on Bt and Non-Bt cotton: implications for evolution and resistance management. *Plos One* 9: e111588.
- Ravid, U., M. Bassat, E. Putievsky, V. Weinstein & R. Ikan. 1987.** Isolation and determination of optically pure carvone enantiomers from caraway (*Carum carvi* L.), dill (*Anethum graveolens* L.), spearmint (*Mentha spicata* L.) and *Mentha longifolia* (L.) Huds. *Flavour Fragr. J.* 2: 95-97.
- Rojas, J.C., L. Cruz-Lopez, E.A. Malo, O. Díaz-Gomez, G. Calyecac & J.C. Tovar. 2006.** Identification of the sex pheromone of *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 99: 797-802.
- Rajendran S. & V. Sriranjini. 2008.** Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Stored Prod Res.* 44: 126-135.
- Regnault-Roger, C., C. Vincent & J.T. Arnason. 2012.** Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annu. Rev. Entomol.* 57: 405-424.
- Ribeiro, R.C., T.V. Zanuncio, F.S. Ramalho, C.A.D. Silva, J.E. Serrão & J.C. Zanuncio. 2015.** Feeding and oviposition of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) with sublethal concentrations of ten condiments essential oils. *Ind. Crops Prod.* 74: 139-143.
- Santos, G.K.N., K.A. Dutra, C.S. Lira, B.N. Lima, T.H. Napoleão, P.M.G. Paiva, C.A. Maranhão, S.S.F. Brandão & D.M.A.F. Navarro. 2014.** Effects of *Croton rhamnifolioides* essential oil on *Aedes aegypti* oviposition, larval toxicity and trypsin activity. *Molecules* 19: 16573-16587.
- SAS Institute. 2002.** User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute INC., Cary, NC.
- Sainz, P., J. Sanz, J. Burillo, A. González-Coloma, M. Bailén & R.A. Martínez-Díaz. 2012.** Essential oils for the control of reduviid insects. *Phytochem.* 11: 361-369.

- Schiestl, F. P., & Marion-Poll, F. (2002).** Detection of physiologically active flower volatiles using gas chromatography coupled with electroantennography, p. 173-198. In J.E. Jackson & H.E. Linskens (eds.), *Analysis of taste and aroma*. Springer, Berlin, 269p.
- Seo, S.M., J. Kim, S.G. Lee, C.H. Shin, S.C. Shin & I.K. Park. 2009.** Fumigant antitermitic activity of plant essential oils and components from ajowan (*Trachyspermum ammi*), allspice (*Pimenta dioica*), caraway (*Carum carvi*), dill (*Anethum graveolens*), geranium (*Pelargonium graveolens*), and litsea (*Litsea cubeba*) oils against Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). *J. Agric. Food Chem.* 57: 6596-6602.
- Si, L., Y. Chen, X. Han, Z. Zhan, S. Tian, Q. Cui & Y. Wang. 2012.** Chemical composition of essential oils of *Litsea cubeba* harvested from Its distribution areas in China. *Molecules* 17: 7057-7066.
- Silva, T.B.M., H.A.A Siqueira, A.C. Oliveira, J.B. Torres, J.V. Oliveira, P.A.V. Montarryos & M.J.D.C. Farias. 2011.** Insecticide resistance in Brazilian populations of the cotton leaf worm, *Alabama argillacea*. *Crop Prot.* 30:1156-1161.
- Silva, R.C.S., P. Milet-Pinheiro, P.C.B Silva, A.G. Silva, M.V. Silva, D.M.A.F. Navarro & N.H. Silva. 2015.** (*E*)-Caryophyllene and α -Humulene: *Aedes aegypti* oviposition deterrents elucidated by gas chromatography-electrophysiological assay of *Commiphora leptophloeos* leaf oil. *Plos One* 10: e0144586.
- Souza, F.V.M., M.B. Rocha, D.P. Souza & R.M. Marçal. 2013.** (–)-Carvone: Antispasmodic effect and mode of action. *Fitoterapia* 85: 20-24.
- Srividya, N., E.M. Davis, R.B. Croteau & B.M. Lange. 2015.** Functional analysis of (4S)-limonene synthase mutants reveals determinants of catalytic outcome in a model monoterpene synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112: 3332-3337.
- Sun, J.G., L.Q. Huang, C.Z. Wang. 2012.** Electrophysiological and behavioral responses of *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae) to tobacco volatiles. *Arthrop. Pl. Inter.* 6: 375-384.
- Synowiec, A., D. Kalembe, E. Drozdek & J. Bocianowski. 2017.** Phytotoxic potential of essential oils from temperate climate plants against the germination of selected weeds and crops. *J. Pest. Sci.* 90: 407-419.
- Toxopeus, H. & H.J. Bouwmeester. 1993.** Improvement of caraway essential oil and production in The Netherlands. *Ind. Crops Prod.* 1: 295-301.
- Tripathi, A.K., S. Upadhyay, M. Bhuiyan & P. R. Bhattacharya. 2009.** A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J. Pharmac. Phytother.* 1: 052-064.
- Uniyal, A., S.N. Tikar, R. Singh, S.V. Shukla, O.P. Agrawal, V. Veer & D. Sukumaran. 2014.** Repellent effect, knockdown study and electrophysiological responses of essential oils against *Aedes aegypti*. *J. Entomol. Zool. Stud.* 2: 351-357.

- Van Den Dool, H. & P.D.J.A. Kratz. 1963.** Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.* 11: 463-471.
- Vieira, P.C., J.B. Fernandes & C.C. Andrei. 2004.** Plantas inseticidas, In C.M.O Simões, E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick (eds.), *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre, UFSC, 1102p.
- Yan, Q., M.Y. Zheng, J.W. Xu, J.F. Ma, Y. Chen, Z.P. Dong, L. Liu, S.L. Dong & Y.N. Zhang. 2018.** Female sex pheromone of *Athetis lepigone* (Lepidoptera: Noctuidae): Identification and field evaluation. *J. Appl. Entomol.* 142: 125-130.
- Yang, J.O., J.H. Park, B.K. Son, S.R. Moon, S.H. Kang, C. Yoon & G.H. Kim. 2009.** Repellency and electrophysiological response of caraway and clove bud oils against bean bug *Riptortus clavatus*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 52: 668-674.
- Zhang, Q.H., R.G. Schneidmiller & D.R. Hoover. 2013.** Essential oils and their compositions as spatial repellents for pestiferous social wasps. *Pest Manag. Sci.* 69: 542-552.
- Zhang, Q.H., R.G. Schneidmiller, D.R. Hoover, G. Zhou, A. Margaryan, P. Bryant. 2014.** Essential oils as spatial repellents for the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stal) (Hemiptera: Pentatomidae). *J. Appl. Entomol.* 138: 490-499.

Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha spicata* e *Juniperus virginiana*.

Nº	Composto ^a	<i>Litsea cubeba</i>			<i>Melaleuca alternifolia</i>		<i>Mentha spicata</i>		<i>Juniperus virginiana</i>	
		I.R. ^b	I.R. ^c	%	I.R. ^c	%	I.R. ^c	%	I.R. ^c	%
1	α -Thujene	924	-	-	924	0,51	-	-	-	-
2	α -Pinene	932	930	0,77	930	1,93	930	0,58	-	-
3	Camphene	946	944	0,19	-	-	-	-	-	-
4	Sabinene	969	971	0,49	971	0,24	970	0,18	-	-
5	β -Pinene	974	-	-	973	0,45	973	0,65	-	-
6	Myrcene	988	990	0,52	990	0,36	990	0,42	-	-
7	α -Phellandrene	1002	-	-	1003	0,30	-	-	-	-
8	α-Terpinene	1014	-	-	1014	8,77	-	-	-	-
9	p-Cymene	1020	-	-	1022	3,40	-	-	-	-
10	o-Cymene	1022	-	-	-	-	1023	0,28	-	-
11	Limonene	1024	1026	9,93	1026	1,45	1026	14,95	-	-
12	1,8-Cineole	1026	-	-	1028	1,75	-	-	-	-
13	Linalool	1095	1099	1,18	-	-	-	-	-	-
14	Menthone	1148	-	-	-	-	1153	0,92	-	-
15	γ-Terpinene	1054	-	-	1057	18,60	-	-	-	-
16	Citronellal	1158	1153	0,92	-	-	-	-	-	-
17	Isomenthone	1158	-	-	-	-	1163	0,42	-	-
18	Z-Isocitral	1160	1165	0,42	-	-	-	-	-	-
19	Neomenthol	1161	-	-	-	-	1171	1,78	-	-
20	Terpinolene	1086	-	-	1087	2,97	-	-	-	-
21	(Z)-p-Menth-2-en-1-ol	1118	-	-	1120	0,18	-	-	-	-
22	(E)-p-Menth-2-en-1-ol	1136	-	-	1138	0,19	-	-	-	-
23	Terpinen-4-ol	1174	1176	0,21	1177	47,24	1176	0,20	-	-
24	(E)-Isocitral	1177	1183	0,46	-	-	-	-	-	-
25	α-Terpineol	1186	1190	0,70	1189	4,18	1190	0,21	-	-
26	(Z)-Dihydrocarvone	1191	-	-	-	-	1196	0,61	-	-
27	Dihydro carveol	1192	-	-	-	-	1193	0,30	-	-
28	γ -Terpineol	1199	-	-	1196	0,18	-	-	-	-
29	Citronellol	1223	1229	0,42	-	-	-	-	-	-
30	Neral	1235	1241	32,52	-	-	-	-	-	-
31	Carvone	1239	-	-	-	-	1244	75,41	-	-
32	Geraniol	1249	1255	0,98	-	-	-	-	-	-
33	Geranial	1264	1271	44,68	-	-	-	-	-	-
34	dihydro-Linalool acetate	1272	1281	1,69	-	-	-	-	-	-
35	Menthyl acetate	1294	-	-	-	-	1294	0,28	-	-
36	2-epi- α -Funebrene	1380	-	-	-	-	-	-	1379	0,13
37	α -Duprezianene	1387	-	-	-	-	-	-	1384	0,34
38	β -Elemene	1390	1392	0,17	-	-	-	-	1392	0,25
39	α -Chamipinene	1396	-	-	-	-	-	-	1397	0,07

Tabela 1. Continuação.										
40	α -Funebrene	1402	-	-	-	-	-	-	1401	0,11
41	Sesquithujene	1405	-	-	-	-	-	-	1406	0,11
42	α -Gurjunene	1409	-	-	1410	0,30	-	-	-	-
43	α-Cedrene	1410	-	-	-	-	-	-	1413	18,49
44	(<i>E</i>)-Caryophyllene	1417	1420	1,52	1420	0,18	1420	0,89	-	-
45	β-Cedrene	1419	-	-	-	-	-	-	1421	4,31
46	(<i>Z</i>)-Thujopsene	1429	-	-	-	-	-	-	1432	31,94
47	Isobazzanene	1436	-	-	-	-	-	-	1437	0,12
48	Aromadendrene	1439	-	-	1439	1,23	-	-	-	-
49	Myltayl-4(12)-ene	1445	-	-	1444	0,10	-	-	-	-
50	α -Himachalene	1449	-	-	-	-	-	-	1450	0,55
51	α -Humulene	1452	1455	0,14	-	-	-	-	1454	0,09
52	allo-Aromadendrene	1458	-	-	1462	0,45	-	-	-	-
53	α -Acoradiene	1464	-	-	-	-	-	-	1465	0,61
54	β -Acoradiene	1469	-	-	-	-	-	-	1468	0,45
55	α -Neocallitropsene	1474	-	-	-	-	-	-	1472	0,20
56	E-Cadina-1(6),4-diene	1475	-	-	1474	0,24	-	-	-	-
57	β -Chamigrene	1476	-	-	-	-	-	-	1478	1,48
58	ar-Curcumene	1479	-	-	-	-	-	-	1484	0,28
59	β -Selinene	1489	-	-	1487	0,08	-	-	1487	0,44
60	(<i>Z</i>)- β -Guaiene	1492	-	-	1489	0,16	-	-	-	-
61	Viridiflorene	1496	-	-	1496	1,86	-	-	-	-
62	β -Alaskene	1498	-	-	-	-	-	-	1496	0,69
62	α -Muurolele	1500	-	-	1501	0,12	-	-	-	-
63	β -Himachalene	1500	-	-	-	-	-	-	1501	2,95
64	α -Chamigrene	1503	-	-	-	-	-	-	1504	0,93
65	Cuparene	1504	-	-	-	-	-	-	1506	2,15
66	α -Alaskene	1512	-	-	-	-	-	-	1514	1,31
67	δ -Cadinene	1522	-	-	1525	0,99	-	-	1524	1,04
68	(<i>E</i>)-Cadina-1,4-diene	1533	-	-	1534	0,11	-	-	-	-
69	γ -Cuprenene	1533	-	-	-	-	-	-	1533	0,48
70	δ -Cuprenene	1542	-	-	-	-	-	-	1544	0,24
71	Allocedrol	1589	-	-	-	-	-	-	1591	0,23
72	Caryophyllene oxide	1582	1585	0,22	-	-	-	-	-	-
73	Globulol	1590	-	-	1586	0,17	-	-	-	-
74	(<i>Z</i>)-dihydro-Mayurone	1595	-	-	-	-	-	-	1596	0,07
75	Cedrol	1600	-	-	-	-	-	-	1603	25,61
76	Epi-cedrol	1618	-	-	-	-	-	-	1615	0,30
77	α -Acorenol	1632	-	-	-	-	-	-	1632	0,58
78	β -Acorenol	1636	-	-	-	-	-	-	1636	0,37
79	Himachalol	1652	-	-	-	-	-	-	1649	0,11
80	3-Thujopsanone	1653	-	-	-	-	-	-	1652	0,43
81	7-epi- α -Eudesmol	1662	-	-	-	-	-	-	1660	0,07
82	8-Cedren-13-ol	1688	-	-	-	-	-	-	1692	0,09

Tabela 1. Continuação.										
83	Mayurone	1703	-	-	-	-	-	-	1708	0,11
84	(Z)-Thujopsenal	1708	-	-	-	-	-	-	1706	0,16
85	Cedryl acetate	1767	-	-	-	-	-	-	1766	0,17
Monoterpenos					11,9	38,98		17,06		-
Monoterpenos oxigenados					84,18	53,72		80,13		-
Sesquiterpenos					1,83	5,82		0,89		69,76
Sesquiterpenos oxigenados					0,22	0,17		-		28,3
Total					98,13	98,69		98,08		98,06

^a Constituintes listados em ordem de eluição na coluna apolar DB-5;

^b Índices de retenção de Kratz da literatura (Adams, 2009);

^c Índices de retenção de Kratz calculados através dos tempos de retenção em relação aos da série de n-alcenos (C₈-C₂₅);

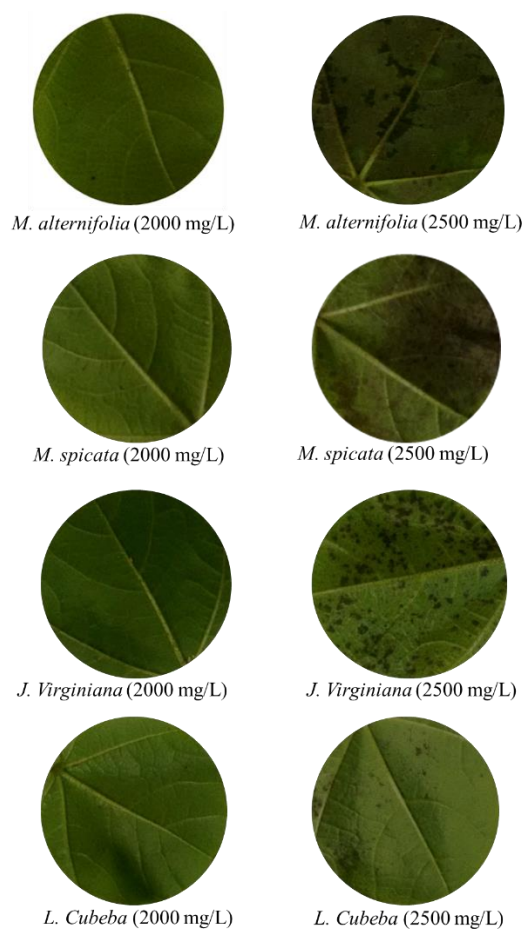


Figura 1. Fitotoxicidade dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha spicata* e *Juniperus virginiana* sobre folhas de algodão cultivar BRS safira nas concentrações de 2000 mg/L e 2500 mg/L dos óleos.

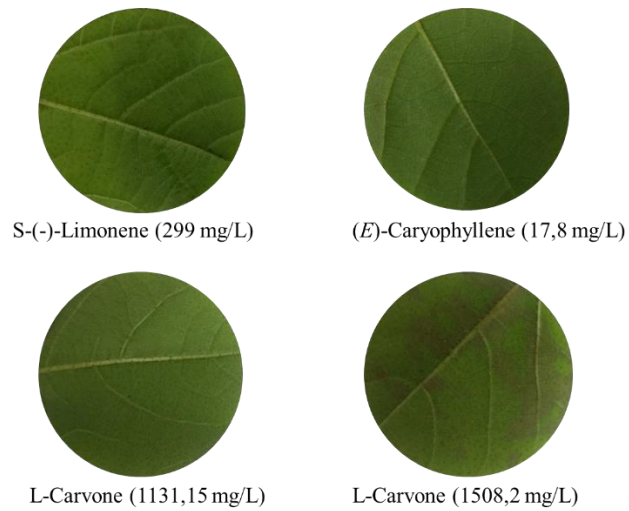


Figura 2. Fitotoxicidade dos compostos químicos S-(-)-limoneno e (E)-cariofileno nas concentrações de 299 mg/L e 17,8 mg/L, respectivamente, e do L-carvona nas concentrações de 1131,15 mg/L e 1508,2 mg/L sobre folhas de algodão cultivar BRS.

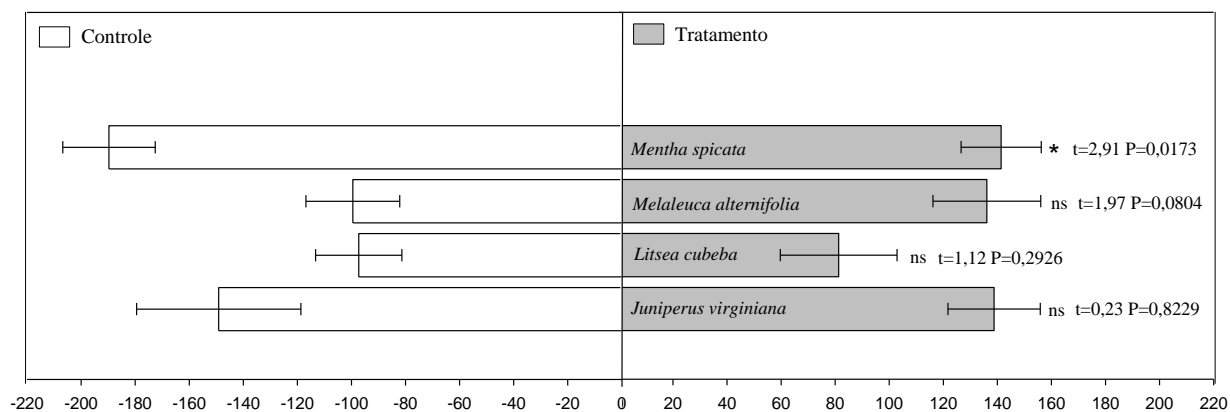


Figura 3. Teste de preferência para oviposição de *Alabama argillacea* com chance de escolha, sobre ponteiros de plantas de algodão tratados e não tratados com óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha spicata* e *Juniperus virginiana*. *(significativo) e ns (não significativo) pelo teste-t pareado a $P \leq 0,05$. Temperatura de $25,2 \pm 1,4$ °C, umidade relativa de $67 \pm 0,7\%$ e fotofase de 12h.

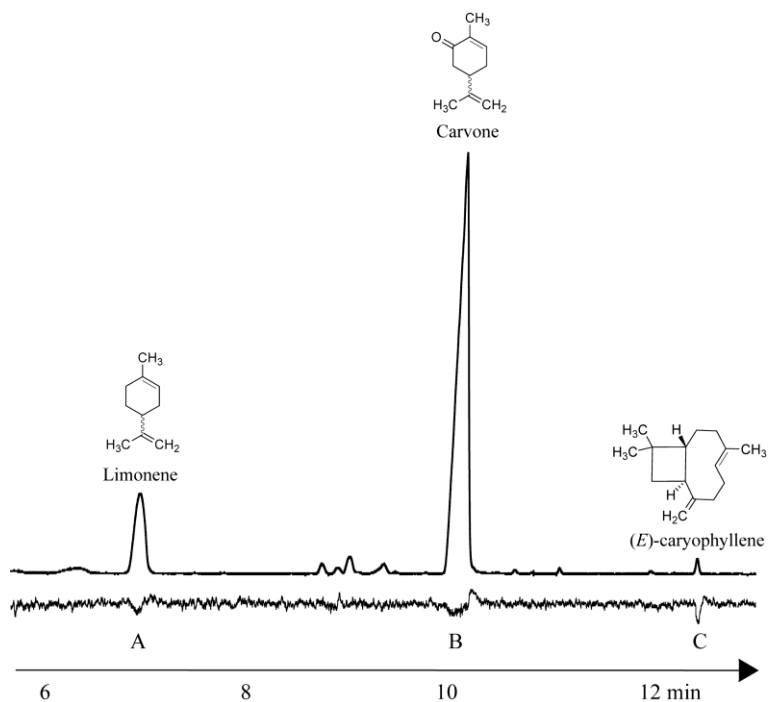


Figura 4. Percepção das antenas de fêmeas de *Alabama argillacea* a componentes do óleo essencial de *Mentha spicata* identificados por cromatografia a gás acoplado à detecção eletroantegráfica (CG-EAD), A- limoneno, B- carvona e C-(*E*)-cariofileno.

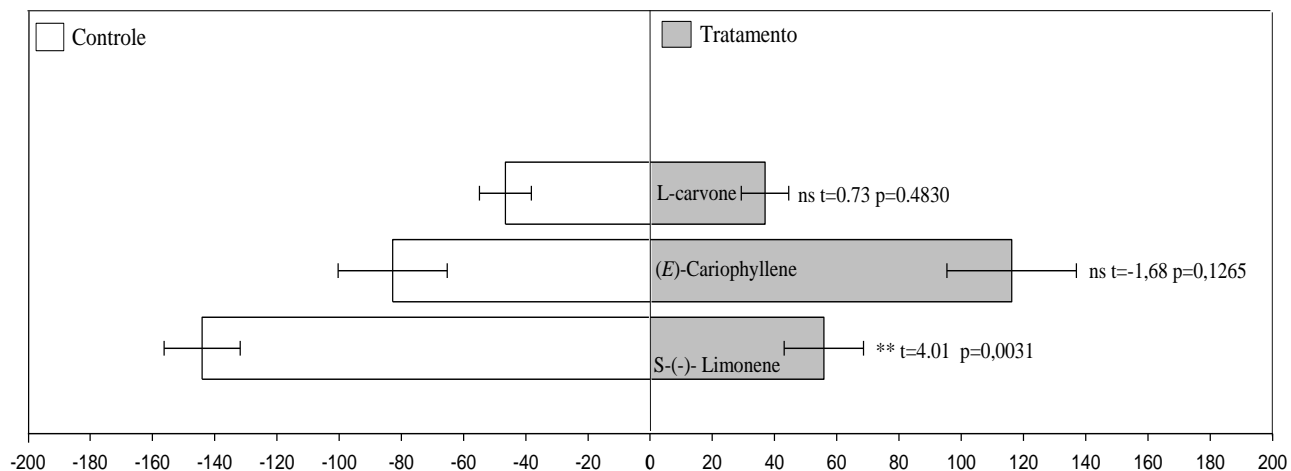


Figura 5. Preferência para oviposição de *Alabama argillacea* com chance de escolha de brotos terminais de plantas de algodão tratados e não tratados com compostos químicos. *(significativo) e ns (não significativo) pelo teste-t pareado a $P \leq 0,05$. Temperatura de $25,2 \pm 1,4$ °C, umidade relativa de $67 \pm 0,7\%$ e fotofase de 12h.

CAPÍTULO 4

TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE PARÂMETROS BIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)¹

ANDREZO A. SANTOS², VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA^{2,3}, GLAUCILANE S. CRUZ², DANIELA M.A.F. NAVARRO⁴, JOSÉ V. OLIVEIRA², KAMILA A. DUTRA⁴, ÁLVARO A.C. TEIXEIRA³

²Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

⁴Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE.

¹Santos, A.A, V. Wanderley-Teixeira, G.S Cruz, D.M.A.F. Navarro, J.V. Oliveira, K.A. Dutra & Á.A.C. Teixeira. Toxicidade de óleos essenciais sobre parâmetros biológicos e reprodutivos de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae). A ser submetido.

RESUMO - *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) é importante praga do algodão (*Gossypium hirsutum* L.), sendo considerada a principal lagarta desfolhadora desta cultura. Seu controle tem sido realizado principalmente com inseticidas sintéticos, mesmo com os riscos atribuídos a esses produtos. Os óleos essenciais têm se tornado uma alternativa no controle de pragas, apresentando uma série de características que contribuem para um manejo sustentável destes organismos em áreas agrícolas. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos dos óleos essenciais de *Litsea cubeba* (Lour.) Pers., *Melaleuca alternifolia* Cheel, *Juniperus virginiana* L e *Mentha spicata* L., sobre os parâmetros biológicos e reprodutivos de *A. argillacea*, e consequentes alterações nas gônadas de machos e fêmeas. Todos os óleos apresentaram toxicidade por contato tópico em lagartas de terceiro ínstar de *A. argillacea*, provocaram redução no peso das lagartas e pupas, bem como, no número e viabilidade dos ovos. Estes óleos, alteraram a histoquímica dos testículos, sendo que *M. alternifolia*, *J. virginiana* e *M. spicata* afetou a sua morfologia. Os ovários também tiveram sua histoquímica alterada pelos óleos de *M. alternifolia*, *J. virginiana* e *L. cubeba*. Neste caso, os óleos testados no presente trabalho se mostram promissores para o controle de *A. argillacea*, podendo contribuir no manejo integrado desta praga

PALAVRAS-CHAVE: Curuquerê-do-algodão, gônadas, histoquímica, inseticidas botânicos, parâmetros biológicos

TOXICITY OF ESSENTIAL OILS ON THE BIOLOGICAL AND REPRODUCTIVE
PARAMETERS OF *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)

ABSTRACT- *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) is an important cotton pest (*Gossypium hirsutum* L.), being considered the main leafhopper of this crop. Its control has been carried out mainly with synthetic insecticides, even with the risks attributed to these products. Essential oils have become an alternative in pest control, presenting a series of characteristics that contribute to the sustainable management of these organisms in agricultural areas. The objective of this work was to evaluate the effects of the essential oils of *Litsea cubeba* (Lour.) Pers., *Melaleuca alternifolia* Cheel, *Juniperus virginiana* L and *Mentha spicata* L., on the biological and reproductive parameters of *A. argillacea*, and consequent alterations in gonads of males and females. All oils showed toxicity by topical contact in third instar larvae of *A. argillacea*, caused reduction in the weight of larvae and pupae, as well as egg number and viability. These oils altered the histochemistry of the testes, and *M. alternifolia*, *J. virginiana* and *M. spicata* affected its morphology. Ovarioles also had their histochemistry altered by the oils of *M. alternifolia*, *J. virginiana* and *L. cubeba*. In this case, the oils tested in the present work are promising for the control of *A. argillacea*, which may contribute to the integrated management of this pest.

KEY WORDS: cotton leafworm, gonad, histochemistry, botanical insecticides, biological parameters

Introdução

Os óleos essenciais têm se tornado uma alternativa promissora para o controle de pragas, por apresentar uma série de características, tais como menor persistência no ambiente, menor toxicidade aos mamíferos, maior seletividade aos inimigos naturais e bioatividade comprovada para inúmeras pragas de importância agrícola (Isman 2006, Knaak & Fiuza 2010, Corrêa & Salgado 2011, Regnault-Roger *et al.* 2012). Estes óleos são constituídos por uma gama de compostos químicos pertencentes aos grupos dos terpenos e fenilpropanoides, sendo que o número de constituintes varia a depender da espécie e das condições ambientais na qual a planta foi submetida (Gobbo-Neto & Lopes 2007, Bakkali *et al.* 2008, Bernards 2010, Si *et al.* 2012, Dima & Dima 2015).

Devida a essa abundância de constituintes, os óleos essenciais podem agir em diferentes sistemas dos insetos, tais como nervoso, respiratório, digestivo e reprodutivo (Menezes 2005, Rajendran & Sriranjini 2008, Scudeler & Santos 2013, Alves *et al.* 2014, Cruz *et al.* 2015). Neste último caso, os óleos essenciais podem interferir nos processos de espermatogênese e oogênese, provocando alterações na morfologia e histoquímica das gônadas, e conseqüentemente, afetando a fecundidade e fertilidade desses insetos (Alves *et al.* 2014, Cruz *et al.* 2015).

Para algumas pragas de importância econômica como *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebididae), considerada praga-chave do algodão (*Gossypium hirsutum* L.) (Ramalho *et al.* 2014, Gonçalves *et al.* 2015), a principal forma de controle é através de inseticidas sintéticos (Silva *et al.* 2011, Boiça Junior *et al.* 2012), apesar dos efeitos negativos aos inimigos naturais, ao meio ambiente e a saúde humana (Bastos *et al.* 2006, Ansari *et al.* 2014, Nicolopoulou-Stamati *et al.* 2016). Assim, estudos que investigam os efeitos dos óleos essenciais sobre esta praga, podem contribuir no estabelecimento de medidas de controle mais sustentáveis para esta importante praga da cotonicultura.

De acordo com a literatura os óleos essenciais de *Litsea cubeba* (Lour.) Pers., *Melaleuca alternifolia* Cheel, *Juniperus virginiana* L. e *Mentha spicata* L. possuem efeitos deterrentes ou tóxicos comprovados para vários insetos de importância urbana e agrícola (Pavela 2005, Amer & Mehlhorn 2006, Jiang *et al.* 2009, Ko *et al.* 2009, Benelli *et al.* 2013). Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito desses óleos essenciais sobre os parâmetros biológicos e reprodutivos *A. argillacea*, e consequentes efeitos nas gônadas de machos e fêmeas deste inseto.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Fisiologia de Insetos do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal/DMFA, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Criação de *Alabama argillacea*. Os insetos foram obtidos da criação estoque do Laboratório de Fisiologia de Inseto do Departamento de Fisiologia e Morfologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Estes foram mantidos à temperatura de $25,2 \pm 1,4$ °C, umidade relativa de $67 \pm 0,7\%$ e fotofase de 12h. As lagartas foram alimentadas diariamente com folhas de algodão cultivar BRS safira. Os adultos foram mantidos em gaiola de PVC com dimensões de 15 cm de diâmetro com 20 cm de altura, revestidas internamente com papel sulfite, como substrato para oviposição. A alimentação dos adultos foi feita com solução de mel a 10% e uma mistura de levedura e mel na proporção de 1:1.

Obtenção dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais de *M. spicata*, *L. cubeba*, *M. alternifolia* e *J. virginiana* foram obtidos da Empresa Ferquima Ind. e Com. Ltda. (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil). Extraídos a partir de folhas de *M. spicata* e *M. alternifolia*, dos frutos de *L. cubeba*

e da madeira de *J. virginiana*. As informações técnicas desses produtos e seus parâmetros de qualidade (coloração, pureza, odor, densidade a 20 °C e índice de refração a 20 °C) são descritos em relatório técnico fornecido pela empresa, conforme site < <http://www.ferquima.com.br>>.

Análises químicas dos óleos essenciais. Os óleos essenciais de *M. spicata*, *L. cubeba*, *M. alternifolia* e *J. virginiana* foram analisados qualitativamente por cromatografia a gás acoplada à espectrometria CG/EM de massas em um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series CG/EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0,25 mm d.i., 0,25 µm espessura da película). Uma alíquota de 1 µL da solução (2000 µg/mL) de cada óleo essencial preparada em hexano foi injetada em split 1:50, assim como uma solução hexânica da mistura de padrões de hidrocarbonetos: C8-C30 (Sigma-Aldrich®). A temperatura do cromatógrafo gasoso foi ajustada em 60 °C por 3 min, sendo então elevada em 2,5 °C min⁻¹ até alcançar 240 °C e mantida nesta temperatura por 10 min. O fluxo de hélio foi mantido em pressão constante de 100 kPa. A interface da espectrometria de massas foi definida em 200 °C e os espectros de massa registrados em 70 eV (em modo EI) com uma velocidade de escaneamento de 0,5 scan-s de m/z 20-350 (Santos *et al.* 2014). Os constituintes do óleo essencial foram quantificados através da Cromatografia Gasosa (CG) em um sistema Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA) Trace CG Ultra gás equipado com um detector de ionização por chama (DIC), com uma coluna HB-5 (30 m x 0,25 mm d.i., 0,25 µm de espessura da película). A temperatura do forno foi mantida a 40 °C durante 2 min e depois aumentada a 4 °C min⁻¹ para 230 °C. O injetor e o detector foram mantidos a 250 °C. Para realizar a quantificação, 1 µL da solução (2000 µg/mL) de cada óleo essencial preparada em hexano foi injetada em splitless. A composição de cada componente foi expressa na forma de percentagens da área total do pico conforme registrado por GC-FID.

Identificação Química dos Óleos Essenciais. Os Índices de Retenção (IR) de cada componente dos óleos essenciais foram calculados segundo a equação de Van den Dool & Kratz (1963), de acordo com os tempos de retenção dos componentes da amostra de cada óleo essencial, do padrão de hidrocarboneto (C8-C30) e da combinação de cada óleo essencial com a mistura deste padrão. Os componentes de cada óleo essencial foram previamente identificados por similaridade dos valores dos índices de retenção (IR) e posteriormente confirmados por comparação dos respectivos espectros de massa com aqueles disponíveis na biblioteca do GC/EM: MassFinder 4, NIST08 e Wiley Registry™ 9th Edition e com os descritos por Adams (2009).

Teste de Fitotoxicidade. Objetivando avaliar a fitotoxicidade dos óleos essenciais de *L. cubeba*, *M. spicata*, *J. virginiana* e *M. alternifolia*, realizou-se um ensaio preliminar, utilizando as concentrações de 2000 e 2500 mg/L dos óleos essenciais, diluídos em água destilada mais Dimetilsulfóxido (DMSO) a 2%. Discos foliares de 4 cm de diâmetro foram confeccionados a partir de plantas de algodão cultivar BRS. Estes foram submersos durante dez segundos nas concentrações dos óleos essenciais e compostos e posteriormente colocados para secar sobre papel toalha. A fitotoxicidade foi avaliada após 60 min da aplicação, a partir das alterações visuais na coloração do tecido foliar, indicando ação fitotóxica (Cruz *et al.* 2015).

Teste por ingestão. Para o teste de ingestão foi utilizado a concentração do óleo essencial que não apresentaram fitotoxicidade nas folhas de algodão. Para isto, discos foliares de algodão da cultivar BRS safira com 4 cm de diâmetro foram imersos na concentração de 2000 mg/L dos óleos essenciais de *L. cubeba*, *M. spicata*, *J. virginiana* e *M. alternifolia* durante 10 s. Após secos, os discos foram ofertados a lagartas de 3º instar de *A. argillacea*. Como controle foi ofertado discos tratados com água destilada mais DMSO a 2%. As lagartas foram colocadas em placas de Petri (9 cm diâmetro x 1,5 cm altura), agrupando-se 10 lagartas por placa, constituindo-se uma repetição, sendo utilizado um total de três repetições por tratamento. Após 48 horas, avaliou-se a mortalidade das lagartas.

Teste por contato tópico. O teste por contato tópico foi realizado com lagartas de 3º instar (7,07 mg). Os tratamentos consistiram na diluição dos óleos essenciais em acetona, obtendo as concentrações de 2, 3, 4, 5 e 6 mg/g do inseto para o óleo de *J. virginiana*, 1,5, 2, 3, 4, 4,5 e 5 mg/g do inseto para *L. cubeba*, 1, 2, 3, 4 e 5 mg/g do inseto para *M. alternifolia*, 1,5, 2, 2,6, 3, 4 e 5 mg/g do inseto para *M. spicata* e a testemunha (acetona). Essas doses foram obtidas através de testes preliminares objetivando obter mortalidade em torno de 5% e 95% para o estabelecimento das doses definitivas. O bioensaio consistiu na aplicação 1,0 µL de cada concentração na região protorácica do inseto, empregando uma seringa Hamilton™ (50 µL). As lagartas foram colocadas em placas de Petri (9 cm diâmetro x 1,5 cm altura), agrupando-se 10 lagartas por placa, constituindo-se uma repetição, sendo utilizado um total de três repetições por tratamento. As lagartas foram alimentadas com folhas de algodão cultivar BRS safira. Avaliou-se a toxicidade aguda dos óleos essenciais pela contagem de lagartas mortas 48 horas após a instalação do experimento.

Bioensaio. Todos os experimentos foram realizados nas seguintes condições: temperatura de $25,2 \pm 1,4$ °C; $67 \pm 0,7\%$ de UR e fotofase de 12 h. Lagartas de *A. argillacea* de 3ª instar foram submetidas a Dose letal DL₅₀ dos óleos essenciais de *L. cubeba*, *M. spicata*, *J. virginiana* e *M. alternifolia*. As lagartas foram divididas em dois grupos: tratamento (óleo + acetona) e controle (acetona). Em cada tratamento as lagartas receberam 1,0 µL da solução na região protorácica com o auxílio de uma seringa de Hamilton™ (50 µL). Após a aplicação tópica as lagartas foram individualizadas em potes de plástico de 80 mL, sendo alimentadas com folhas de algodão cultivar BRS safira, substituídas diariamente até a fase de pupa. No quinto dia após a instalação do experimento foi feita a pesagem das lagartas e as pupas foram pesadas 24 horas após a formação, as quais foram sexadas e mantidas em tubos de vidro até a emergência dos adultos. Também foi contabilizada a duração da fase larval (período compreendido entre a instalação do experimento até a formação da pupa) e pupal. Para avaliação do peso e período larval e pupal, foram utilizadas dez

repetições com cinco insetos cada, totalizando 50 insetos por tratamento. Para avaliar os parâmetros reprodutivos (período de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, longevidade, total de ovos e viabilidade dos ovos), dez casais de cada tratamento foram acondicionados em gaiola de PVC com dimensões 12 cm x 20 cm (diâmetro e altura). Essas gaiolas foram revestidas internamente com papel contínuo, como substrato para oviposição, e alimentadas com solução de mel a 10%. As posturas foram coletadas diariamente, contabilizadas e acondicionadas em placas de Petri (9 cm diâmetro x 1,5 cm altura) para avaliação da viabilidade dos ovos.

Análise Histológica e Histoquímica das Gônadas de *Alabama argillacea*. Lagartas de *A. argillacea* de 3ª instar foram submetidas a DL₅₀ dos óleos essenciais de *L. cubeba*, *M. spicata*, *J. virginiana* e *M. alternifolia*. 48h após a aplicação dos tratamentos, as lagartas foram imobilizadas à temperatura de 4°C, dissecadas sob estereomicroscópio para retirada das gônadas dos machos e fêmeas. Estas foram fixadas em formol 10% por 24h, e conservadas em álcool 70%. As gônadas foram desidratadas em banhos crescentes de álcool etílico (80, 90 e 100%), por 15 minutos cada, embebidos em álcool+historesina (1:1) por 24h e posteriormente incluído em historesina Leica®. Secções de cortes de 5 µm de espessura foram obtidos em micrótomo Leica® 2035. Os cortes foram submetidos às técnicas de coloração pelo Azul de Toluidina. Com relação às análises histoquímicas foram utilizados o ácido periódico de Schiff (P.A.S.) para detecção de polissacarídeos neutros (Junqueira & Junqueira 1983) e Xylidine Ponceau para detecção de proteínas totais (Pearse 1960). As análises histológicas e histoquímicas foram realizadas utilizando-se microscópio de luz da marca OLYMPUS BX-49, e fotografado em fotomicroscópio Leica® DM 500 e OLYMPUS BX-51. As imagens foram capturadas e digitalizadas pelo software LAS Leica Image.

Quantificação Média de Polissacarídeos Neutros e Proteínas Totais. Com o auxílio do programa de editor de imagens GIMP 2.8 (GNU Image Manipulation Program, UNIX platforms) foram convertidas as imagens digitais de histoquímica para uma escala de cinza, permitindo assim a

mensuração dos valores de pixels referentes à marcação selecionada no tecido (Solomon 2009). Para cada análise histoquímica utilizou-se três lâminas de indivíduos diferentes, sendo mensurados quatro campos de cada lâmina, totalizando 12 campos por grupo.

Análises estatística. No teste de toxicidade por ingestão, os dados de mortalidade foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis a 5% de significância. Na obtenção da curva de toxicidade por contato tópico dos óleos essenciais, os dados de mortalidade contabilizados às 48 horas após a instalação do experimento foram submetidos à análise de probit através do programa SAS PROC PROBIT. Para os parâmetros: peso de lagarta e pupa, período de oviposição, total de ovos e longevidade, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD a 5% de significância. Para avaliação dos períodos de lagarta, pupa, pré-oviposição e pós-oviposição e viabilidade dos ovos, os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis a 5% de significância. Para os parâmetros histoquímicos, os dados de polissacarídeos neutros dos ovariolos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD a 5% de significância. Já para proteínas totais e polissacarídeos neutros dos testículos, os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis a 5% de significância. Todas as análises foram feitas utilizando o programa estatístico SAS (SAS Institute, 2002).

Resultados

Análises químicas dos óleos essenciais. Todos os compostos identificados nos óleos essenciais são pertencentes ao grupo dos terpenos. Sendo que em *L. cubeba*, *M. spicata* e *M. alternifolia* mais de 92% dos constituintes são monoterpenos, enquanto que em *J. virginiana* todos os constituintes identificados (98,06%) são sesquiterpenos (Tabela 1). Os compostos majoritários presentes nos óleos essenciais são o carvona (75,41%) e limoneno (14,95%) em *M. spicata*; Geranial (44,68%), Neral

(32,52%) e limoneno (9,93%) em *L. cubeba*; terpinen-4-ol (47,24%), γ -terpineno (18,60%), α -terpineno (8,77%) e α -terpineol (4,18%) em *M. alternifolia* e Z-thujopsene (31,94%), cedrol (25,61%), α -cedrene (18,49%) e β -cedrene (4,31%), e em *J. virginiana*.

Fitotoxicidade dos óleos essenciais. Os testes de fitotoxicidade dos óleos essenciais de *L. cubeba*, *M. alternifolia*, *M. spicata* e *J. virginiana*, mostraram que estes óleos não apresentaram ação fitotóxica na concentração de 2000 mg/L do óleo (Fig. 1). Entretanto, quando os discos foliares foram submetidos a concentração de 2500 mg/L, todos os óleos essenciais apresentaram fitotoxicidade.

Toxicidade de óleos essenciais via ingestão em *Alabama argillacea*. Os óleos essenciais de *L. cubeba*, *M. alternifolia*, *M. spicata* e *J. virginiana* não apresentaram toxicidade por ingestão em lagartas de terceiro instar de *A. argillacea* na concentração de 2000 mg/L dos óleos essenciais ($\chi^2=3,2308$; $P=0,5200$). Doses acima desta não foram testadas devido à fitotoxicidade.

Toxicidade de óleos essenciais via contato tópico em *Alabama argillacea*. Os óleos essenciais de *L. cubeba*, *M. alternifolia*, *M. spicata* e *J. virginiana* apresentaram toxicidade para lagartas de 3º instar de *A. argillacea*, com DL_{50} variando de 2,50 a 3,97 mg/g de inseto e DL_{90} de 4,46 a 6,71 mg/g de inseto. O óleo essencial de *M. spicata* apresentou as menores DL_{50} e DL_{90} e uma maior razão de toxicidade em ambas as doses (Tabela 2).

Bioensaios. Todos os óleos essenciais quando aplicado a DL_{50} via contato tópico sobre lagartas de terceiro instar de *A. argillacea* reduziram significativamente o peso das lagartas ($F=20,48$; $p=0,0001$) e pupas ($F=3,78$; $P=0,0098$) quando comparadas ao controle (Tabela 3). O período larval ($\chi^2=7,6471$; $P=0,1054$) e pupal ($\chi^2=6,2216$; $P=0,1832$) não diferiu do controle (Tabela 3). Em relação aos parâmetros reprodutivos, apenas o óleo essencial de *J. virginiana* afetou o período de pré-oviposição, aumentando-o em relação ao controle ($\chi^2=9,5977$; $P=0,0478$) (Tabela 4). Enquanto apenas o óleo essencial de *M. spicata* reduziu a longevidade em relação ao controle ($F=3,82$;

P=0,0093. Todos os óleos essenciais testados, reduziram o número de ovos (F=5,51; P=0,0011) e a viabilidade ($\chi^2=16,6116$; P=0,0023) (Tabela 5).

Análise Histológica e Histoquímica das Gônadas de *Alabama argillacea*. Os ovaríolos do controle e dos tratados são revestidos com uma bainha de tecido conjuntivo, o oócito é circundado por células foliculares e apresenta uma região vitelária bem desenvolvida. Entre os ovócitos são encontradas células nutrizas, característico de ovaríolo meroístico politrófico (Fig. 2). Não foi observado alterações morfológicas entre os ovaríolos do tratamento em relação ao controle.

A análise histoquímica detectou reação positiva para Xylidine Ponceau nos ovaríolos de adultos do controle e dos tratamentos (Fig. 3. A-E). Mostrando uma redução nos teores de proteína quando os insetos foram tratados com o óleo de *L. cubeba*, *J. virginiana* e *M. alternifolia* ($\chi^2=29,3544$; P=0,0001) (Fig. 3. F). Na detecção de polissacarídeos neutros por Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.), tanto o controle como os tratamentos, apresentaram coloração positiva nos ovaríolos dos adultos (Fig. 4. A-E). Mostrando um aumento nos teores de polissacarídeos neutros quando os insetos foram tratados com *L. cubeba* e *M. alternifolia* (F=6,60; P=0,0002) (Fig. 4. F).

Os testículos dos adultos de *A. argillacea* são revestidos por um tecido conjuntivo, sendo observado a presença de cistos e espermatozoides. Nos testículos tratados com *J. virginiana*, *M. spicata* e *M. alternifolia*, observou-se espaços não preenchidos por espermatozoides (Fig 5. F, H e J). Os testículos dos insetos tratados com *M. alternifolia* se mostraram pouco desenvolvidos, além de visivelmente, apresentar uma maior abundância de cistos e uma redução no tamanho da gônada (Fig. 5. G e H).

A análise histoquímica detectou reação positiva para Xylidine Ponceau nos testículos de adultos do controle e dos tratamentos (Fig. 6. A-E). Mostrando uma redução nos teores de proteína quando os insetos foram tratados com o óleo de *J. virginiana* e *M. alternifolia* ($\chi^2=21,8028$; P=0,0002) (Fig. 6. F). Na detecção de polissacarídeos neutros por Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.),

tanto o controle como os tratamentos, apresentaram coloração positiva nos testículos dos adultos (Fig. 7. A-E). Todos os tratamentos reduziram os teores de carboidratos neutros quando comparados com o controle ($\chi^2=41,3557$; $P=0,0001$) (Fig. 7. F).

Discussão

Terpeno é o grupo mais abundante de compostos químicos presentes nos óleos essenciais, sendo encontrados na forma de monoterpenos e sesquiterpenos (Modzelewska *et al.* 2005, Bakkali *et al.* 2008, Zuzarte & Salgueiro 2015). Esta característica foi constatada no presente trabalho, no qual, todos os compostos identificados foram pertencentes a este grupo.

Espécie de planta, condições edafoclimáticas e fitossanitárias são fatores que influenciam na constituição química dos óleos essenciais, provocando uma variação no número e quantidade relativa de seus constituintes (Gobbo-Neto & Lopes 2007, Bakkali *et al.* 2008, Si *et al.* 2012). Estas variações são observadas nos perfis químicos do óleo de *M. spicata* (Chauhan *et al.* 2009, Kizil *et al.* 2010, Znini *et al.* 2011, Govindarajan *et al.* 2012), *L. cubeba* (Seo *et al.* 2009, Wang & Liu 2010), *M. alternifolia* (Brophy *et al.* 1989, Benelli *et al.* 2013) e *J. virginiana* (Zhang & Yao 2018).

Os óleos essenciais podem agir por contato, ingestão e fumigação (Ko *et al.* 2009, Benelli *et al.* 2013, Dutra *et al.* 2016). Sendo que o modo de ação é um fator importante a ser considerado para uma maior eficácia de um óleo; já que os constituintes podem apresentar características químicas como lipofilia, variações no tamanho, forma da molécula e no grupo funcional que influenciam na capacidade de penetração, movimentação e interação com seus sítios alvos, e conseqüentemente, na capacidade inseticida de um óleo (Rice & Coats 1994, Pavela 2011, Castilhos *et al.* 2017).

Os constituintes dos óleos podem atuar de forma distinta nos diferentes sistemas dos insetos, possibilitando a obtenção de várias respostas biológicas (Isman 2000, Rattan 2010, Regnault-Roger *et al.* 2012, Cruz *et al.* 2017). Mortalidade, redução no peso e período larval e pupal, alterações nos

parâmetros reprodutivos tais como número e viabilidade dos ovos, assim como, na morfologia e histoquímicas das gônadas, são algumas das respostas observadas nos insetos, frente a um óleo essencial (Cruz *et al.* 2015, Alves *et al.* 2014, Cruz *et al.* 2016).

Algumas dessas respostas têm sido relatadas para os óleos utilizados na presente pesquisa; Govindarajan *et al.* (2012) mostraram que o óleo essencial de *M. spicata* foi tóxico para larvas de *Anopheles stephensi* Liston (CL₅₀ = 49,71 ppm), *Aedes aegypti* L. (CL₅₀ = 56,08 ppm) e *Culex quinquefasciatus* Say (CL₅₀ = 62,62 ppm); estes autores obtiveram mortalidade acima de 96% para estes insetos quando utilizaram a concentração de 125 ppm. Kedia *et al.* (2014) relataram que além do óleo de *M. spicata* apresentar atividade tóxica para *Callosobruchus chinensis* (CL₅₀= 0,003 µL/mL de ar), este óleo provocou repelência, deterrência à alimentação e oviposição, toxicidade para ovo, larvas e pupas em diferentes concentrações do óleo. Pavela (2005) também relatou toxicidade do óleo de *M. spicata* em lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) via contato tópico (DL₅₀=0,092 µL/larva) e fumigação (DL₅₀=46,2 ml/m³).

Essa toxicidade sobre insetos, também é observada para os compostos majoritários do óleo de *M. spicata*; o composto carvona apresentou toxicidade para larvas de *A. stephensi* (CL₅₀ = 19,33 ppm), *A. aegypti* (CL₅₀ = 23,69 ppm) e *C. quinquefasciatus* (CL₅₀ = 25,47 ppm) (Govindarajan *et al.* 2012). Meisner *et al.* (1982) quando incorporaram 1% de (-)-carvona na dieta de *Spodoptera littoralis* houve uma diminuição no peso e sobrevivência das lagartas, redução na formação de pupas, além de uma baixa emergência de adultos. O limoneno, outro componente majoritário do óleo de *M. spicata*, apresentou atividade tóxica a lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* (DL₅₀ de 31,53 mg/g a insetos), via contato tópico; além disso, este composto provocou uma redução nos teores de proteínas, lipídios, açúcar total e glicogênio; alteração no período de oviposição, diminuição no número de ovos e sobrevivência dos adultos, bem como, induziu apoptose nos testículos das lagartas (Cruz *et al.* 2017). Em *Trichoplusia ni*, o limoneno também apresentou

toxicidade por contato tópico ($DL_{50}= 427,3 \mu\text{L}/\text{larva}$) sobre lagartas de terceiro ínstar. Assim como, este composto se mostrou tóxico para larvas de *A. stephensi* ($CL_{50} = 8,83 \text{ ppm}$), *A. aegypti* ($CL_{50} = 12,01 \text{ ppm}$) e *C. quinquefasciatus* ($CL_{50} = 14,07 \text{ ppm}$) (Govindarajan et al. 2012).

M. alternifolia apresentou toxicidade a adultos de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) por injeção (DL_{50} de 0,269% do óleo), fumigação (CL_{50} de 2,239 μL óleo/L de ar) e contato (CL_{50} de 0,117 μL óleo/ cm^2 de papel filtro tratado) (Benelli et al. 2013). Seus compostos majoritários Terpinen-4-ol e α -terpineol são relatados por provocar toxicidade por contato tópico em lagartas de quarto instar de *Spodoptera litura* (Fabricius), apresentando DL_{50} de 130,4 e 141,3 $\mu\text{g}/\text{larva}$, respectivamente (Hummelbrunner & Isman 2001). O γ -terpinene também apresentou toxicidade por contato tópico ($DL_{50}= 89 \mu\text{L}/\text{larva}$) para lagartas de terceiro instar de *S. littoralis* (Pavela 2014).

Amer & Mehlhorn (2006) trabalhando com o óleo essencial de *J. virginiana*, obtiveram mortalidade de 100% para larvas de terceiro instar de *A. aegypti* 12 horas após a aplicação de 50 ppm do óleo. Os compostos majoritários thujopsene, α -cedrene e cedrol também são relatados por provocar toxicidade por contato tópico sobre fêmeas adultas de *Culex pipiens pallens*, apresentando DL_{50} de 4,5, 33,5 e 21,2 $\mu\text{g}/\text{inseto}$, respectivamente (Oda et al. 1977).

Estudos realizados por Jiang et al. (2009) mostraram que o óleo essencial de *L. cubeba*, quando administrado via contato tópico, apresentou toxicidade para lagartas de *Trichoplusia ni* Hubner (DL_{50} de 112,4 $\mu\text{g}/\text{larva}$). Ko et al. (2009) avaliando o óleo essencial desta mesma espécie de planta, observaram toxicidade por contato tópico (DL_{50} de 0,10 e 0,212 $\mu\text{L}/\text{larva}$) e fumigação (CL_{50} 92,46 e 549,57 $\mu\text{L}/\text{L}$) para adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky e *Tribolium castaneum* (Herbst), respectivamente. Neral e geranial são compostos majoritários encontrado no óleo de *L. cubeba*; em alguns perfis químicos de óleos essenciais a presença destes compostos tem sido referida como citral, que é a mistura natural dos dois aldeídos isoméricos, no caso, neral (cis-citral) e geranial (trans-citral) (Santin et al. 2009, Ho et al. 2010, Liao et al. 2015). O citral foi relatado por Tak et al. (2016)

por apresentar toxicidade por contato tóxico (DL₅₀ de 135,9 µg/inseto) em lagartas de terceiro ínstar e de *T. ni*.

Em insetos holometábolos, o sucesso reprodutivo é altamente dependente de uma nutrição adequada na fase imatura (Milano *et al.* 2010). Um inseto sob déficit nutricional, em decorrência de uma interrupção na alimentação ou por dificuldades na absorção e metabolização dos nutrientes, pode realocar nutrientes entre processos fisiológicos. Neste caso, trade-offs podem correr entre reprodução e defesas imunológicas (Schwenke *et al.* 2016), bem como, entre reprodução e longevidade (Blacher *et al.* 2017). Esta estratégia é importante já que proteínas, lipídios, carboidratos e glicogênio são fundamentais para um bom desempenho reprodutivo nos insetos. No caso das proteínas, estas estão diretamente envolvidas na síntese de hormônio e enzimas, importantes para o processo de vitelogênese; os lipídios além de ser fontes de reservas, estão associados a proteínas que atuam no transporte de hormônios; já os carboidratos atuam no processo previtelogênico enquanto que os açúcares atuam como reserva energética (Arrese *et al.* 2010, Guizzo *et al.* 2012, Lima-Mendonça *et al.* 2014, Rosas-Mejía *et al.* 2015).

Neste caso, os óleos essenciais e compostos químicos podem interferir na absorção e metabolismo dos nutrientes, e conseqüentemente, afetar a reprodução destes insetos (Silva *et al.* 2016, Silva *et al.* 2017, Cruz *et al.* 2017). Alves *et al.* (2014), mostraram que o óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) afetou de forma negativa a espermatogênese, bem como, provocou alterações na histoquímica dos ovários de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). Cruz *et al.* (2015) relataram alterações na histologia e histoquímica das gônadas de *S. frugiperda*, resultando na redução da oviposição, quando utilizaram o óleo essencial de cravo da Índia [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry]. A redução da oviposição de *S. frugiperda*, também foi observada para os óleos essenciais de *Eucalyptus staigeriana* F., *Ocimum gratissimum* L., e *Foeniculum vulgare* Mill (Cruz *et al.* 2016).

Os óleos essenciais de *L. cubeba*, *M. alternifolia*, *M. spicata* e *J. virginiana* apresentaram toxicidade via contato tópico em lagartas de terceiro ínstar de *A. argillacea*. O óleo de *J. virginiana* foi o que apresentou a menor toxicidade na DL₅₀ entre os óleos. Este fato pode está relacionado a sua constituição química, na qual, todos os constituintes identificados foram pertencentes aos sesquiterpenos; diferentemente dos outros óleos, nos quais, há uma predominância de monoterpenos em sua constituição. Entretanto, este óleo se mostrou promissor ao longo do desenvolvimento de *A. argillacea*, por alterar diversos parâmetros biológicos e reprodutivos, inclusive, mais do que o óleo de *M. spicata*, que apresentou uma maior toxicidade na DL₅₀.

Além disso, os óleos essenciais afetaram os parâmetros histoquímicos com efeitos na eclosão. No caso de *M. spicata*, apesar deste não alterar os teores de carboidratos e proteínas no ovariolo, este foi o único tratamento que afetou a longevidade, o que pode indicar uma tentativa de realocação de recursos nutricionais para o processo reprodutivo.

O presente trabalho mostrou que os óleos essenciais de *M. spicata*, *L. cubeba*, *J. virginiana* e *M. alternifolia* afetaram os parâmetros biológicos e reprodutivos de *A. argillacea*, reduzindo o peso das lagartas e pupas, número e viabilidade dos ovos, bem como, alterações na morfologia e histoquímica das gônadas de *A. argillacea*. Mostrando assim, alto potencial para o controle desta praga.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da pesquisa.

Literatura Citada

Adams, R.P. 2009. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th ed. Allured Publishing Co., Carol Stream, IL, 469p.

- Alves, T.J.S., G.S. Cruz, V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, J.V. Oliveira, A.A. Correia, C.A.G. Câmara & F.M. Cunha. 2014.** Effects of *Piper hispidinervum* on spermatogenesis and histochemistry of ovarioles of *Spodoptera frugiperda*. *Biotech. Histochem.* 88: 1-11.
- Amer A. & H. Mehlhorn. 2006.** Larvicidal effects of various essential oils against. *Parasitol. Res.* 99: 466-472
- Ansari, M.S., M.A. Moraiet & S. Ahmad. 2014.** Insecticides: Impact on the environment and human health, p. 99-123. In A.E. Malik, R. Grohmann & R. Akhtar (eds.), *Environmental deterioration and human health: natural and anthropogenic determinants*. New York, Springer, 421p.
- Arrese, E.L., A.D. Howard, R.T. Patel, O.J. Rimoldi & J.L. Soulages. 2010.** Mobilization of lipid stores in *Manduca sexta*: cDNA cloning and developmental expression of fat body triglyceride lipase, TGL. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40: 91-99.
- Bastos, C.S., R.P. Almeida & F.A. Suinaga. 2006.** Selectivity of pesticides used on cotton (*Gossypium hirsutum*) to *Trichogramma pretiosum* reared on two laboratory-reared hosts. *Pest. Manag. Sci.* 62: 91-98.
- Bakkali F. S. Averbeck, D. Averbeck, & M. Idaomar. 2008.** Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chem. Tox.* 46: 446-475.
- Benelli G., A. Canale, G. Flamini, P.L. Cioni, F. Demi, L. Ceccarini, M. Macchia & B. Contia. 2013.** Biototoxicity of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) essential oil against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and its parasitoid *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae). *Ind. Crops Prod.* 50: 596-603.
- Bernards, M.A. 2010.** Plant natural products: a primer. *Can. J. Zool.* 88: 601-14.
- Blacher, P., T.J. Huggins & A.F.G. Bourke. 2017.** Evolution of ageing, costs of reproduction and the fecundity–longevity trade-off in eusocial insects. *Proc. R. Soc. B* 284: 20170380.
- Boiça Junior, A.L., F.G.J. Jesus, J.C. Janini, A.G. Silva & G.C.S. Alves. 2012.** Resistência de variedades de algodão ao curuquerê do algodoeiro *Alabama argillacea* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Ceres* 59: 48-55.
- Brophy, J.J, N.W. Davies, I.A. Southwell, I.A. Stiff & L.R. Williams. 1989.** Gas Chromatographic Quality Control for Oil of *Melaleuca* Terpinen-4-ol Type (Australian Tea Tree). *J. Agric. Food Chem.* 37: 1330-1335.
- Castilhos, R.V., A.D. Grützmacher & J.R. Coats. 2017.** Acute toxicity and sublethal effects of terpenoids and essential oils on the predator *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotrop. Entomol.* 47: 311-317

- Chauhan, R.S., M.K. Kaul, A.K. Shahi, A. Kumar, G. Ram & A. Tawa. 2009.** Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM(J)26] from North-West Himalayan region, India. *Ind. Crop. Prod.* 29: 654-656.
- Corrêa, J.C.R. & H.R.N. Salgado. 2011.** Atividade inseticida de plantas e aplicações: revisão. *Rev. Bras. Pl. Med.* 13: 500-506.
- Cruz, G.S., C.W.Teixeira, J.V. Oliveira, A.A.C.T. Teixeira, A.C. Araújo, T.J.S. Alves, F.M. Cunha & M. O. Breda. 2015.** Alteraciones histológicas e histoquímicas provocadas por el aceite esencial de clavo de olor en las gónadas de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Int. J. Morphol.* 33: 1393-1400.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, F.S.C. Lopes, D.R.S. Barbosa, M.O. Breda, K.A. Dutra, C.A. Guedes, D.M.A. F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2016.** Sublethal effects of essential Oils from *Eucalyptus staigeriana* (Myrtales: Myrtaceae), *Ocimum gratissimum* (Lamiales: Lamiaceae), and *Foeniculum vulgare* (Apiales: Apiaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econo. Entomol.* 109: 660-666.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, C.G. D'assunção, F.M. Cunha, A.A.C. Teixeira, C.A. Guedes, K.A. Dutra, D.R.S. Barbosa & M.O. Breda. 2017.** Effect of trans-anethole, limonene and your combination in nutritional componentes and their reflection on reproductive parameters and testicular apoptosis in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chem. Biol. Interact.* 263: 74-80.
- Dima, C. & S. Dima. 2015.** Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. *Curr. Opin. Food Sci.* 5: 29-35.
- Dutra, K.A., J.V. Oliveira, D.M.A.F. Navarro, D.R.S. Barbosa & J.P. Oliveira. 2016.** Control of *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in *Vigna unguiculata* (L.) Walp. with essential oils from four *Citrus* spp. plants. *J. Stored Prod. Res.* 68: 25-32.
- Gobbo-Neto, L. & N.P. Lopes. 2007.** Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova.* 30: 374-381.
- Gonçalves, S.G., C.A.D. Silva, M.M.Freire Duarte & E.D. Vasconcelos. 2015.** Oviposição do curuquerê e alimentação de suas lagartas neonatas em algodoeiros tratados com caulim. *Pesqu. Agropec. Bras.* 50: 526-533.
- Govindarajan, M., R. Sivakumar, M. Rajeswari & K. Yogalakshmi. 2012.** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. *Parasitol. Res.* 110: 2023-2032.
- Guizzo, M.G., L. Abreu, A. Masuda, C. Logullo & I.S.V. Junior. 2012.** Metabolism of biomolecules in the embryogenesis of the tick *Rhipicephalus microplus* (Boophilus). *Acta Sci. Vet.* 40: 1010-1022.

- Ho, C.L., O. Jie-Pinge, Y.C.Liu, C.P. Hung, M.C. Tsai, P.C. Liao, E.I. Wang, Y.L. Chen & Y.C. Su. 2010.** Compositions and in vitro anticancer activities of the leaf and fruit oils of *Litsea cubeba* from Taiwan. *Nat. Prod. Commun.* 5: 617-620.
- Isman, M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop. Protec.* 19: 603-608.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 45-66.
- Jiang, Z., Y. Akhtar, R. Bradbury, X. Zhang & M.B. Isman 2009.** Comparative toxicity of essential oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and blends of their major constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *J. Agric. Food Chem.* 57: 4833-4837.
- Junqueira, L.C.U. & L.M.M.S. Junqueira, 1983.** Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo, Guanabara Koogan, 123p.
- Knaak, N. & L.M. Fiuza. 2010.** Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotrop. Biol. Conserv.* 5:120-132.
- Kedia, A., B. Prakash, P.K. Mishra, C.S. Chanotiya & N.K. Dubey. 2014.** Antifungal, antiaflatoxigenic, and insecticidal efficacy of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil. *Int. Biodeter. Biodegr.* 89: 29-36.
- Kizil, S., Hasimi, N., Tolan, V., Kilinc, E. & U. Yüksel. 2010.** Mineral content, essential oil components and biological activity of two mentha species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). *Turk. J. Field Crops* 15: 148-153.
- Ko, K., W. Juntarajumnong & A. Chandrapatya. 2009.** Repellency, fumigant and contact toxicities of *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 43: 56-63.
- Liao, P.C., T.S. Yang, J.C. Chou, J. Chen, S.C. Lee, Y.H. Kuo, C.L. Ho & L.K.P. Chao. 2015.** Anti-inflammatory activity of neral and geranial isolated from fruits of *Litsea cubeba* Lour. *J. Funct. Foods* 19: 248-258.
- Lima-Mendonça, A., A.L. Mendonça, A.E.G. Sant'Ana & R.R. Nascimento. 2014.** Semioquímicos de moscas das frutas do gênero *Anastrepha*. *Quim. Nova* 37: 293-301.
- Meisner, J., A. Fleischer & C. Eizick. 1982.** Phagodeterreny induced by (-)-carvone in the larva of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 75: 462-466.
- Menezes, E.L.A. 2005.** Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Embrapa Agrobiologia. 58p.

- Milano, P., E.B. Filho, J.R.P. Parra, M.L. Oda & F.L. Cônsoli. 2010.** Efeito da alimentação da fase adulta na reprodução e longevidade nas espécies de Noctuidae, Crambidae, Tortricidae e Elachistidae. *Neotrop. Entomol.* 39: 172-180.
- Modzelewska, A., S. Sur, S.K. Kumar & S.R. Khan. 2005.** Sesquiterpenes: Natural products that decrease cancer growth. *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents* 5: 477-499.
- Nicolopoulou-Stamati P., S. Maipas, C. Kotampasi, P. Stamatis & L. Hens. 2016.** Chemical pesticides and human health: The urgent need for a new concept in agriculture. *Front. Public Health* 4: 1-8.
- Oda, J. I., N. Ando, Y. Nakajima & Y. Inouye. 1977.** Studies on insecticidal constituents of *Juniperus recurva* Buch. *Agric. Bioi. Chern.* 41: 201-204.
- Pavela, R., 2005.** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia* 76: 691-696.
- Pavela, R. 2011.** Insecticidal properties of phenols on *Culex quinquefasciatus* Say and *Musca domestica* L. *Parasit. Res.* 190: 1547-1553.
- Pavela R. 2014.** Acute, synergistic and antagonistic effects of some aromatic compounds on the *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lep., Noctuidae) larvae. *Ind. Crops Prod.* 60: 247-258.
- Pearse, A.G.E. 1960.** Histochemistry: theoretical and applied. London, Churchill, 998p.
- Rajendran S. & V. SriranjiniJ. 2008.** Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Stored Prod Res.* 44: 126-135.
- Ramalho, F.S., J.K.S. Pachú, A.C.S. Lira, J.B. Malaquias, J.C. Zanuncio & F.S. Fernandes. 2014.** Feeding and dispersal behavior of the cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on Bt and Non-Bt Cotton: Implications for evolution and resistance management. *Plos One* 9: e111588.
- Rattan, R.S. 2010.** Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop. Prot.* 29: 913-920.
- Regnault-Roger, C., C. Vincent & J.T. Arnason. 2012.** Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annu. Rev. Entomol.* 57: 405-424.
- Rice, P.J. & J.R. Coats. 1994.** Insecticidal properties of several monoterpenoids to the house fly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) and the southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 1172-1179.
- Rosas-Mejía, M., A. Correa-Sandoval, C.S. Venegas-Barrera & J.V. Horta-Veja. 2015.** Preferencias entre cinco carbohidratos en pheidole bilimeki (Hymenoptera: Formicidae). *Acta Zool. Mex.* 31: 291-297.

- Santin, M.R., A.O. Santos, C.V. Nakamura, B.P. Dias Filho, I.C.P. Ferreira & T. Ueda-Nakamura. 2009.** In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* and its major component (citral) on *Leishmania amazonensis*. Parasitol. Res. 105:1489–1496.
- Santos, G.K.N., K.A. Dutra, C.S. Lira, B.N. Lima, T.H. Napoleão, P.M.G. Paiva, C.A. Maranhão, S.S.F. Brandão & D.M.A.F. Navarro. 2014.** Effects of *Croton rhamnifolioides* essential oil on *Aedes aegypti* oviposition, larval toxicity and trypsin activity. Molecules 19: 16573-16587.
- SAS Institute. 2002.** User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute INC., Cary, NC.
- Schwenke, R.A., B.P. Lazzaro & M.F. Wolfner. 2016.** Reproduction-immunity trade-offs in insects. Annu. Rev. Entomol. 61: 239-259.
- Scudeler, E.L & D.C. Santos. 2013.** Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Ceraeochrysa claveri* (Navas, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). Micron 44: 125-132.
- Seo, S.M., J. Kim, S.G. Lee, C.H. Shin, S.C. Shin & I.K. Park. 2009.** Fumigant antitermitic activity of plant essential oils and components from ajowan (*Trachyspermum ammi*), allspice (*Pimenta dioica*), caraway (*Carum carvi*), dill (*Anethum graveolens*), geranium (*Pelargonium graveolens*), and litsea (*Litsea cubeba*) oils against Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). J. Agric. Food Chem. 57: 6596-6602.
- Si, L., Y. Chen, X. Han, Z. Zhan, S. Tian, Q. Cui & Y. Wang. 2012.** Chemical composition of essential oils of *Litsea cubeba* harvested from its distribution areas in China. Molecules 17: 7057-7066.
- Silva, T.B.M., H.A.A Siqueira, A.C. Oliveira, J.B. Torres, J.V. Oliveira, P.A.V. Montarryos & M.J.D.C. Farias. 2011.** Insecticide resistance in Brazilian populations of the cotton leaf worm, *Alabama argillacea*. Crop. Prot. 30:1156-1161.
- Silva, C.T.S., V. Wanderley-Teixeira, F.M. Cunha, J.V. Oliveira, K.A. Dutra, D.M.A.F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2016.** Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. Acta Histochem. 118: 347-352.
- Silva, C.T.S., V. Wanderley-Teixeira, F.M. Cunha, J.V. Oliveira, K.A. Dutra, D.M.A.F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2017.** Effects of citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) midgut and fat body. Biotech. Histochem. 5 : 1-13.
- Solomon, R.W. 2009.** Free and open source software for manipulation of digital images. Am. J. Roentgenol. 192: 330-334.

- Tak, J.H., E. Jovel & M.B. Isman. 2016.** Contact, fumigant, and cytotoxic activities of thyme and lemongrass essential oils against larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *J. Pest Sci.* 89:183–193.
- Van Den Dool, H. & P.D.J.A. Kratz. 1963.** Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.* 11: 463-471.
- Wang, H. & Y. Liu. 2010.** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from different parts of *Litsea cubeba*. *Chem. Biodivers.* 7: 229-235.
- Zhang, K. & L. Yao. 2018.** The anxiolytic effect of *Juniperus virginiana* L. essential oil and determination of its active constituents. *Physiol. Behav.* 189: 50-58.
- Znini, M., M. Bouklah, L. Majidi, S. Kharchouf, A. Aouniti, A. Bouyanzer, B. Hammouti, J. Costa & S.S. Al-Deyab. 2011.** Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha Spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric Acid. *Int. J. Electrochem. Sci.* 6: 691-704.
- Zuzarte, M., & L. Salgueiro. 2015.** Essential oils chemistry, p. 19-61. In D.P. Sousa (ed.), *Bioactive essential oils and câncer*. Cham, Springer, 292p.

Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha spicata* e *Juniperus virginiana*.

Nº	Composto ^a	<i>Litsea cubeba</i>			<i>Melaleuca alternifolia</i>		<i>Mentha spicata</i>		<i>Juniperus virginiana</i>	
		I.R. ^b	I.R. ^c	%	I.R. ^c	%	I.R. ^c	%	I.R. ^c	%
1	α -Thujene	924	-	-	924	0,51	-	-	-	-
2	α -Pinene	932	930	0,77	930	1,93	930	0,58	-	-
3	Camphene	946	944	0,19	-	-	-	-	-	-
4	Sabinene	969	971	0,49	971	0,24	970	0,18	-	-
5	β -Pinene	974	-	-	973	0,45	973	0,65	-	-
6	Myrcene	988	990	0,52	990	0,36	990	0,42	-	-
7	α -Phellandrene	1002	-	-	1003	0,30	-	-	-	-
8	α-Terpinene	1014	-	-	1014	8,77	-	-	-	-
9	p-Cymene	1020	-	-	1022	3,40	-	-	-	-
10	o-Cymene	1022	-	-	-	-	1023	0,28	-	-
11	Limonene	1024	1026	9,93	1026	1,45	1026	14,95	-	-
12	1,8-Cineole	1026	-	-	1028	1,75	-	-	-	-
13	Linalool	1095	1099	1,18	-	-	-	-	-	-
14	Menthone	1148	-	-	-	-	1153	0,92	-	-
15	γ-Terpinene	1054	-	-	1057	18,60	-	-	-	-
16	Citronellal	1158	1153	0,92	-	-	-	-	-	-
17	Isomenthone	1158	-	-	-	-	1163	0,42	-	-
18	Z-Isocitral	1160	1165	0,42	-	-	-	-	-	-
19	Neomenthol	1161	-	-	-	-	1171	1,78	-	-
20	Terpinolene	1086	-	-	1087	2,97	-	-	-	-
21	(Z)-p-Menth-2-en-1-ol	1118	-	-	1120	0,18	-	-	-	-
22	(E)-p-Menth-2-en-1-ol	1136	-	-	1138	0,19	-	-	-	-
23	Terpinen-4-ol	1174	1176	0,21	1177	47,24	1176	0,20	-	-
24	(E)-Isocitral	1177	1183	0,46	-	-	-	-	-	-
25	α-Terpineol	1186	1190	0,70	1189	4,18	1190	0,21	-	-
26	(Z)-Dihydrocarvone	1191	-	-	-	-	1196	0,61	-	-
27	Dihydro carveol	1192	-	-	-	-	1193	0,30	-	-
28	γ -Terpineol	1199	-	-	1196	0,18	-	-	-	-
29	Citronellol	1223	1229	0,42	-	-	-	-	-	-
30	Neral	1235	1241	32,52	-	-	-	-	-	-
31	Carvone	1239	-	-	-	-	1244	75,41	-	-
32	Geraniol	1249	1255	0,98	-	-	-	-	-	-
33	Geranial	1264	1271	44,68	-	-	-	-	-	-
34	dihydro-Linalool acetate	1272	1281	1,69	-	-	-	-	-	-
35	Menthyl acetate	1294	-	-	-	-	1294	0,28	-	-
36	2-epi- α -Funebrene	1380	-	-	-	-	-	-	1379	0,13
37	α -Duprezianene	1387	-	-	-	-	-	-	1384	0,34
38	β -Elemene	1390	1392	0,17	-	-	-	-	1392	0,25
39	α -Chamipinene	1396	-	-	-	-	-	-	1397	0,07
40	α -Funebrene	1402	-	-	-	-	-	-	1401	0,11
41	Sesquithujene	1405	-	-	-	-	-	-	1406	0,11

Tabela 1. Continuação.

42	α -Gurjunene	1409	-	-	1410	0,30	-	-	-	-
43	α-Cedrene	1410	-	-	-	-	-	-	1413	18,49
44	(<i>E</i>)-Caryophyllene	1417	1420	1,52	1420	0,18	1420	0,89	-	-
45	β-Cedrene	1419	-	-	-	-	-	-	1421	4,31
46	(Z)-Thujopsene	1429	-	-	-	-	-	-	1432	31,94
47	Isobazzanene	1436	-	-	-	-	-	-	1437	0,12
48	Aromadendrene	1439	-	-	1439	1,23	-	-	-	-
49	Myltayl-4(12)-ene	1445	-	-	1444	0,10	-	-	-	-
50	α -Himachalene	1449	-	-	-	-	-	-	1450	0,55
51	α -Humulene	1452	1455	0,14	-	-	-	-	1454	0,09
52	allo-Aromadendrene	1458	-	-	1462	0,45	-	-	-	-
53	α -Acoradiene	1464	-	-	-	-	-	-	1465	0,61
54	β -Acoradiene	1469	-	-	-	-	-	-	1468	0,45
55	α -Neocallitropsene	1474	-	-	-	-	-	-	1472	0,20
56	E-Cadina-1(6),4-diene	1475	-	-	1474	0,24	-	-	-	-
57	β -Chamigrene	1476	-	-	-	-	-	-	1478	1,48
58	ar-Curcumene	1479	-	-	-	-	-	-	1484	0,28
59	β -Selinene	1489	-	-	1487	0,08	-	-	1487	0,44
60	(Z)- β -Guaiene	1492	-	-	1489	0,16	-	-	-	-
61	Viridiflorene	1496	-	-	1496	1,86	-	-	-	-
62	β -Alaskene	1498	-	-	-	-	-	-	1496	0,69
62	α -Muurolene	1500	-	-	1501	0,12	-	-	-	-
63	β -Himachalene	1500	-	-	-	-	-	-	1501	2,95
64	α -Chamigrene	1503	-	-	-	-	-	-	1504	0,93
65	Cuparene	1504	-	-	-	-	-	-	1506	2,15
66	α -Alaskene	1512	-	-	-	-	-	-	1514	1,31
67	δ -Cadinene	1522	-	-	1525	0,99	-	-	1524	1,04
68	(<i>E</i>)-Cadina-1,4-diene	1533	-	-	1534	0,11	-	-	-	-
69	γ -Cuprenene	1533	-	-	-	-	-	-	1533	0,48
70	δ -Cuprenene	1542	-	-	-	-	-	-	1544	0,24
71	Allocedrol	1589	-	-	-	-	-	-	1591	0,23
72	Caryophyllene oxide	1582	1585	0,22	-	-	-	-	-	-
73	Globulol	1590	-	-	1586	0,17	-	-	-	-
74	(Z)-dihydro-Mayurone	1595	-	-	-	-	-	-	1596	0,07
75	Cedrol	1600	-	-	-	-	-	-	1603	25,61
76	Epi-cedrol	1618	-	-	-	-	-	-	1615	0,30
77	α -Acorenol	1632	-	-	-	-	-	-	1632	0,58
78	β -Acorenol	1636	-	-	-	-	-	-	1636	0,37
79	Himachalol	1652	-	-	-	-	-	-	1649	0,11
80	3-Thujopsanone	1653	-	-	-	-	-	-	1652	0,43
81	7-epi- α -Eudesmol	1662	-	-	-	-	-	-	1660	0,07
82	8-Cedren-13-ol	1688	-	-	-	-	-	-	1692	0,09
83	Mayurone	1703	-	-	-	-	-	-	1708	0,11
84	(Z)-Thujopsenal	1708	-	-	-	-	-	-	1706	0,16
85	Cedryl acetate	1767	-	-	-	-	-	-	1766	0,17

Tabela 1. Continuação.				
Monoterpenos	11,9	38,98	17,06	-
Monoterpenos oxigenados	84,18	53,72	80,13	-
Sesquiterpenos	1,83	5,82	0,89	69,76
Sesquiterpenos oxigenados	0,22	0,17	-	28,3
Total	98,13	98,69	98,08	98,06

^a Constituintes listados em ordem de eluição na coluna apolar DB-5;

^b Índices de retenção de Kratz da literatura (Adams, 2009);

^c Índices de retenção de Kratz calculados através dos tempos de retenção em relação aos da série de n-alcenos (C₈-C₂₅);

Tabela 2. Toxicidade dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha spicata* e *Juniperus virginiana* em lagartas de 3º instar de *Alabama argillacea* por contato tópico.

Tratamentos	N ¹	GL ²	Inclinação da reta (\pm EP) ³	DL ₅₀ ⁴ (IC 95%) ⁵ (mg/g)	RT ₅₀ ⁶	DL ₉₀ (IC 95%) (mg/g)	RT ₉₀	χ^2
<i>Juniperus virginiana</i>	150	3	5,69 \pm 0,83	3,97 (3,60-4,38)	-	6,66 (5,77-8,45)	1,00	4,45
<i>Melaleucaalternifolia</i>	150	3	4,04 \pm 0,60	2,82 (2,44-3,23)	1,40	5,85 (4,80-8,15)	1,14	2,64
<i>Litsea cubeba</i>	180	4	4,65 \pm 0,99	3,56 (2,77-4,79)	1,11	6,71 (4,92-18,99)	-	8,83
<i>Mentha spicata</i>	180	4	5,08 \pm 0,70	2,50 (2,24-2,75)	1,58	4,46 (3,88-5,56)	1,50	3,69

¹N= número de insetos usados no teste; GL²= grau de liberdade; EP ³= erro padrão da média; DL⁴= Dose letal (mg/g de inseto), IC⁵ = intervalo de confiança; RT⁶ = razão de toxicidade; χ^2 = Qui-quadrado.

Tabela 3. Parâmetros Biológicos de *Alabama argillacea*, cujas lagartas de 3º instar foram tratadas com a DL₅₀ dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha spicata* e *Juniperus virginiana* por contato tópico.

Tratamentos	Parâmetros Biológicos			
	Peso Larval (g) ¹	Período Larval (dias) ¹	Peso de Pupa (g) ¹	Período de Pupa (dias) ¹
Controle	0,20 ± 0,006 a	10,2 ± 0,35 a	0,14 ± 0,004 a	7,4 ± 0,17 a
<i>Juniperus virginiana</i>	0,10 ± 0,004 b	10,3 ± 0,40 a	0,13 ± 0,002 b	7,5 ± 0,18 a
<i>Litsea cubeba</i>	0,12 ± 0,010 b	9,7 ± 0,27 a	0,13 ± 0,002 b	7,7 ± 0,91 a
<i>Mentha spicata</i>	0,12 ± 0,010 b	9,0 ± 0,25 a	0,13 ± 0,003 b	7,0 ± 0,09 a
<i>Melaleuca alternifolia</i>	0,13 ± 0,004 b	9,4 ± 0,37 a	0,13 ± 0,004 b	7,3 ± 0,09 a
	F=20,48 P=0,0001	$\chi^2=7,6471$ P= 0,1054	F=3,78 P=0,0098	$\chi^2=6,2216$ P=0,1832

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ou Kruskal-Wallis a 5% de significância.

Tabela 4. Parâmetros reprodutivos de *Alabama argillacea*, cujas lagartas de 3º instar foram tratadas com a DL₅₀ dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha spicata* e *Juniperus virginiana* por contato tópico.

Tratamentos	Parâmetros Biológicos			
	Período de Pré-oviposição (dias) ¹	Período de Oviposição (dias) ¹	Período de Pós-oviposição (dias) ¹	Longevidade (dias) ¹
Controle	3,7 ± 0,73 a	12,0 ± 0,98 a	3,3 ± 0,58 a	19,8 ± 1,21 a
<i>Juniperus virginiana</i>	6,5 ± 0,73 b	11,0 ± 0,74 a	1,9 ± 0,52 a	19,3 ± 0,90 a
<i>Litsea cubeba</i>	5,3 ± 0,65 ab	10,5 ± 1,17 a	2,0 ± 0,73 a	16,9 ± 1,49 ab
<i>Mentha spicata</i>	4,5 ± 0,48 a	9,9 ± 1,41 a	1,9 ± 0,48 a	14,0 ± 0,91 b
<i>Melaleuca alternifolia</i>	4,5 ± 0,50 a	12,6 ± 1,31 a	3,0 ± 1,05 a	18,4 ± 1,35 ab
	$\chi^2=9,5977$ P=0,0478	F=0,92 P=0,4628	$\chi^2=4,1825$ P=0,3819	F=3,82 P=0,0093

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ou Kruskal-Wallis a 5% de significância.

Tabela 5. Média do número e viabilidade de ovos de *Alabama argillacea*, cujas lagartas de 3º instar foram tratadas com a DL₅₀ dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha spicata* e *Juniperus virginiana* por contato tópico.

Tratamentos	Parâmetros Biológicos	
	Número de Ovos ¹	Viabilidade dos ovos (%) ¹
Controle	673,1 ± 61,79 a	80,8 ± 2,71 a
<i>Juniperus virginiana</i>	322,9 ± 48,36 b	51,4 ± 10,36 bc
<i>Litsea cubeba</i>	362,5 ± 53,79 b	65,5 ± 4,49 b
<i>Mentha spicata</i>	367,5 ± 59,40 b	49,6 ± 6,61 c
<i>Melaleuca alternifolia</i>	391,5 ± 75,14 b	41,2 ± 8,06 c
	F=5,51 P=0,0011	$\chi^2=16,6116$ P=0,0023

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ou Kruskal-Wallis a 5% de significância.

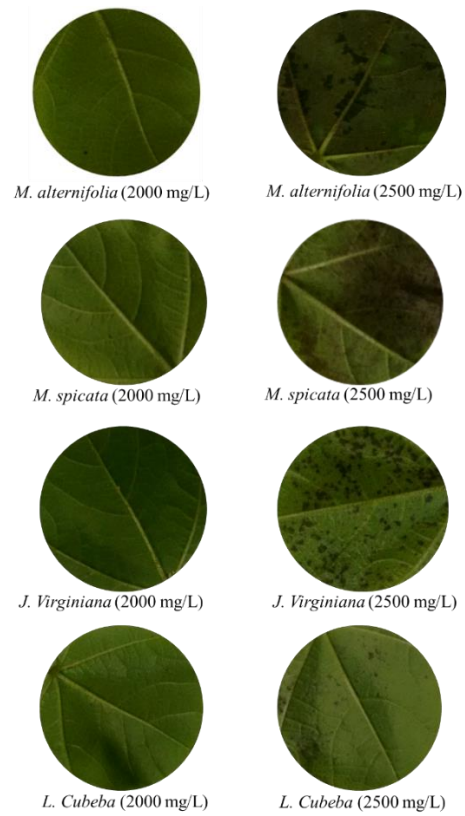


Figura 1. Fitotoxicidade dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha spicata* e *Juniperus virginiana* sobre folhas de algodão cultivar BRS safira nas concentrações de 2000 mg/L e 2500 mg/L dos óleos.

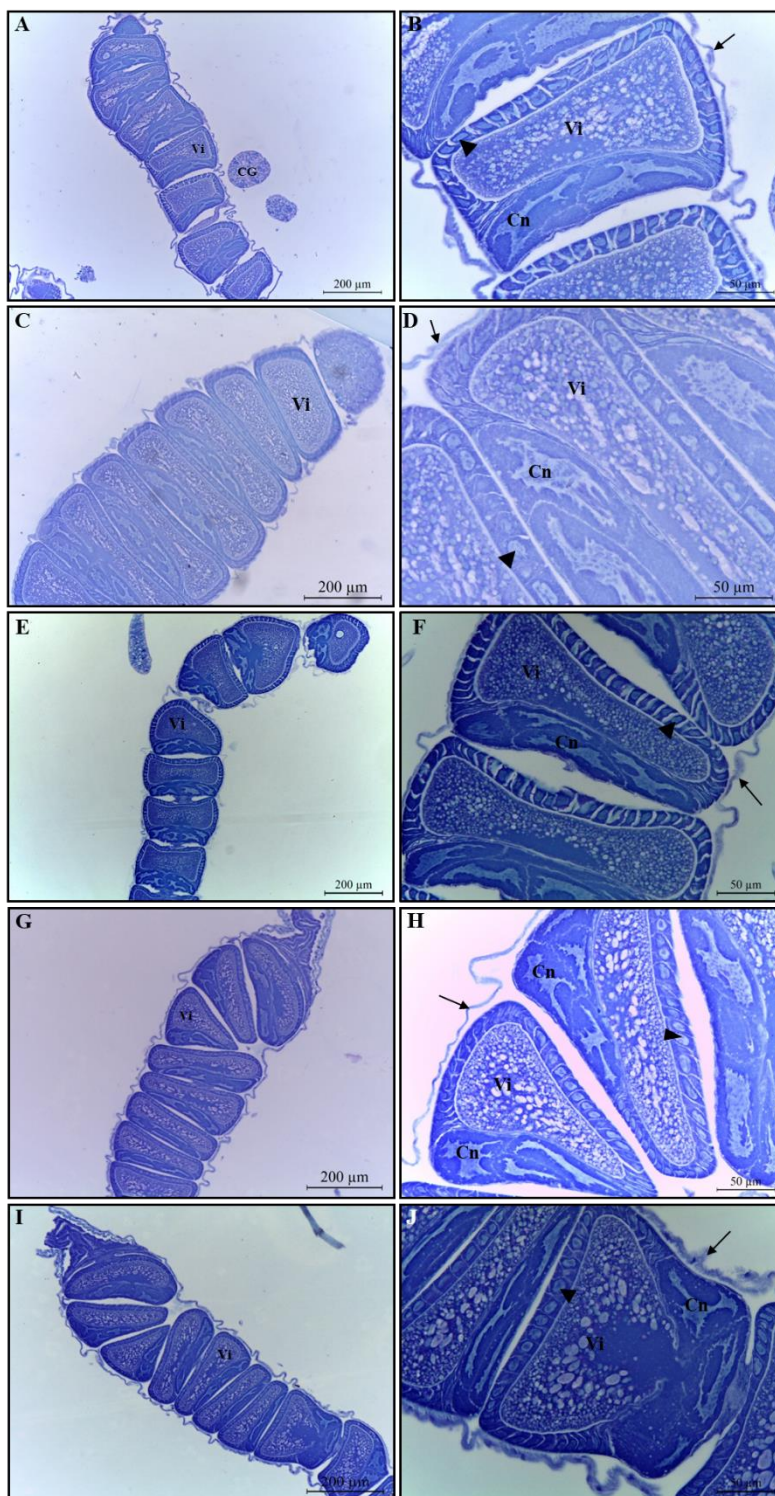


Figura 2. Ovariólos de adultos de *Alabama argillacea*, cujas lagartas de terceiro ínstar foram tratadas, por contato tópico, com a Dose Letal 50 (DL₅₀) dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Juniperus virginiana*, *Melaleuca alternifolia* e *Mentha spicata*. A e B, controle. C e D, *L. cubeba*. E e F, *J. virginiana*. G e H, *M. alternifolia*. I e J, *M. spicata*. Coloração Azul de Toluidina. Vitelo (Vi); células nutrizes (Cn); células foliculares (ponta da seta); bainha de revestimento de tecido conjuntivo (seta longa).

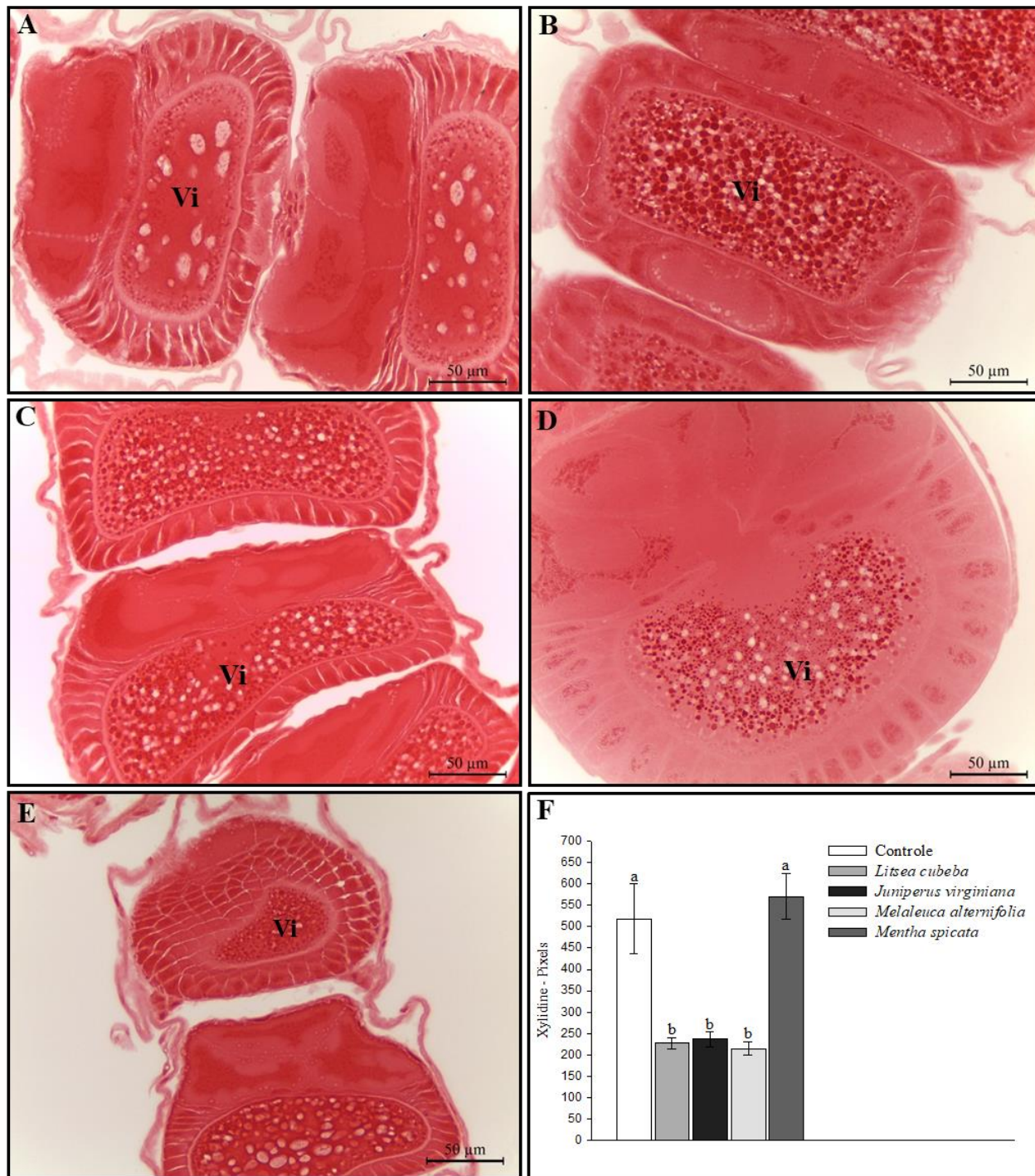


Figura 3. Histoquímica dos ovariolos de adultos de *Alabama argillacea*, cujas lagartas de terceiro ínstar foram tratadas, por contato tópico, com a Dose Letal 50 (DL₅₀) dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Juniperus virginiana*, *Melaleuca alternifolia* e *Mentha spicata*. A, controle. B, *L. cubeba*. C, *J. virginiana*. D, *M. alternifolia*. E, *M. spicata*. F, quantidade de pixels para proteínas totais (média ± EP). Coloração com Xylidine Ponceau. Barras seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância. Vitelo (Vi).

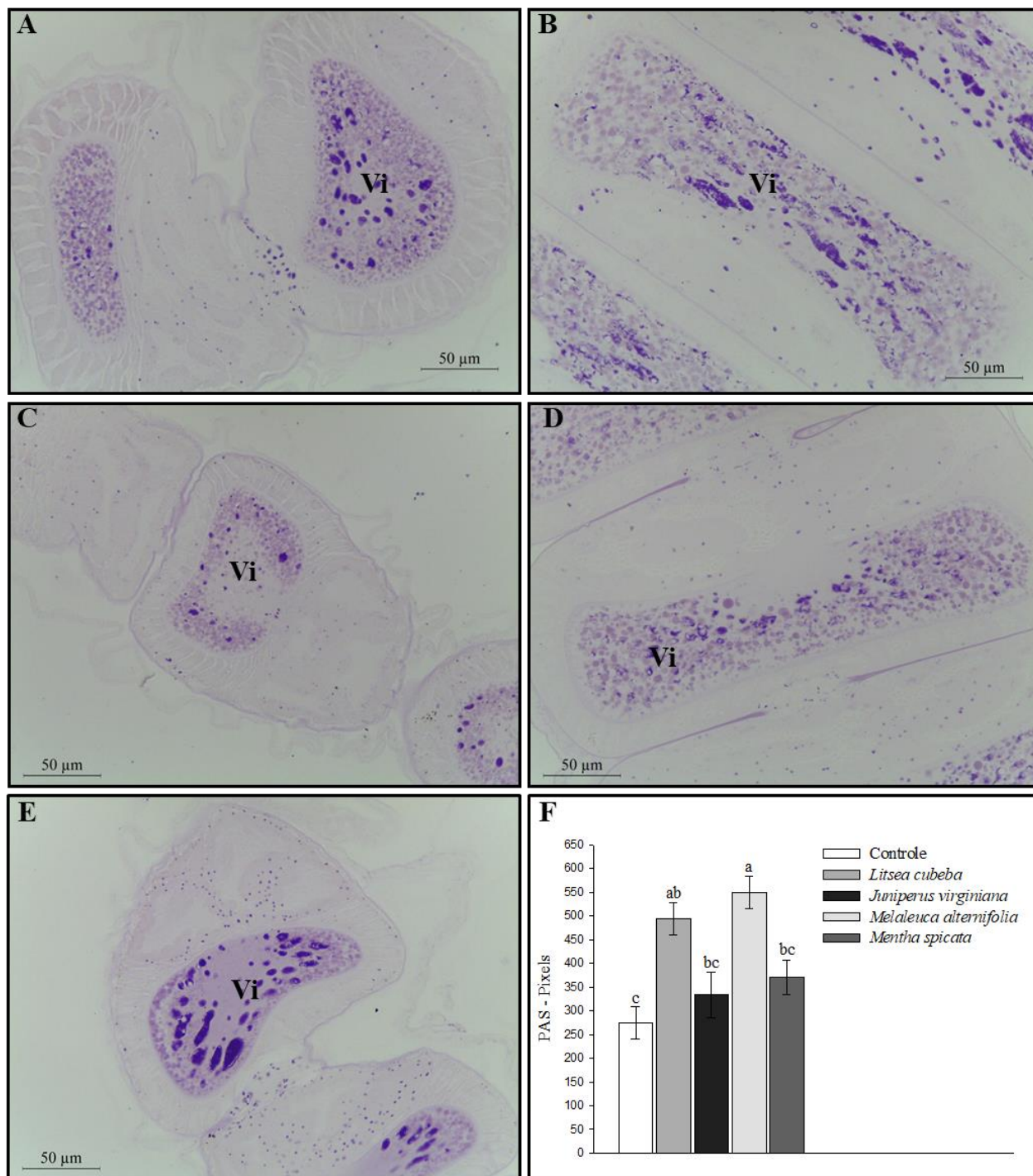


Figura 4. Histoquímica dos ovaríolos de adultos de *Alabama argillacea*, cujas lagartas de terceiro ínstar foram tratadas, por contato tópico, com a Dose Letal 50 (DL₅₀) dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Juniperus virginiana*, *Melaleuca alternifolia* e *Mentha spicata*. A, controle. B, *L. cubeba*. C, *J. virginiana*. D, *M. alternifolia*. E, *M. spicata*. F, quantidade de pixels para Polissacarídeos neutros (média ± EP). Coloração com ácido periódico de Schiff (P.A.S.). Barras seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Vitelo (Vi)

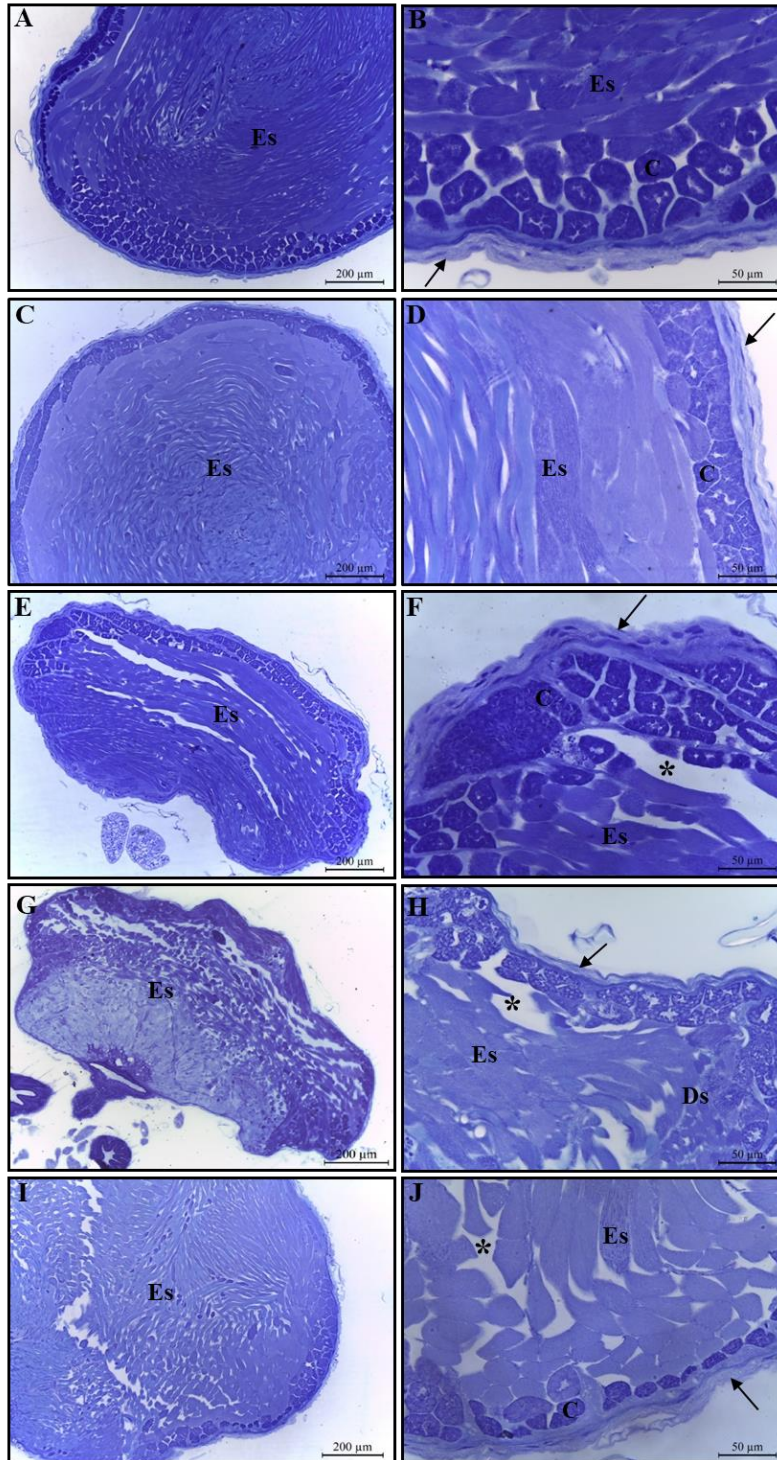


Figura 5. Testículos de adultos de *Alabama argillacea* cujas lagartas de terceiro ínstar foram tratadas, por contato tópico, com a Dose Letal 50 (DL₅₀) dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Juniperus virginiana*, *Melaleuca alternifolia* e *Mentha spicata*. A e B, controle. C e D, *L. cubeba*. E e F, *J. virginiana*. G e H, *M. alternifolia*. I e J, *M. spicata*. Coloração Azul de Toluidina. Espermatozoides (Es); cistos (C); espaços não preenchidos com espermatozoides (*); revestimento de tecido conjuntivo (setas longas).

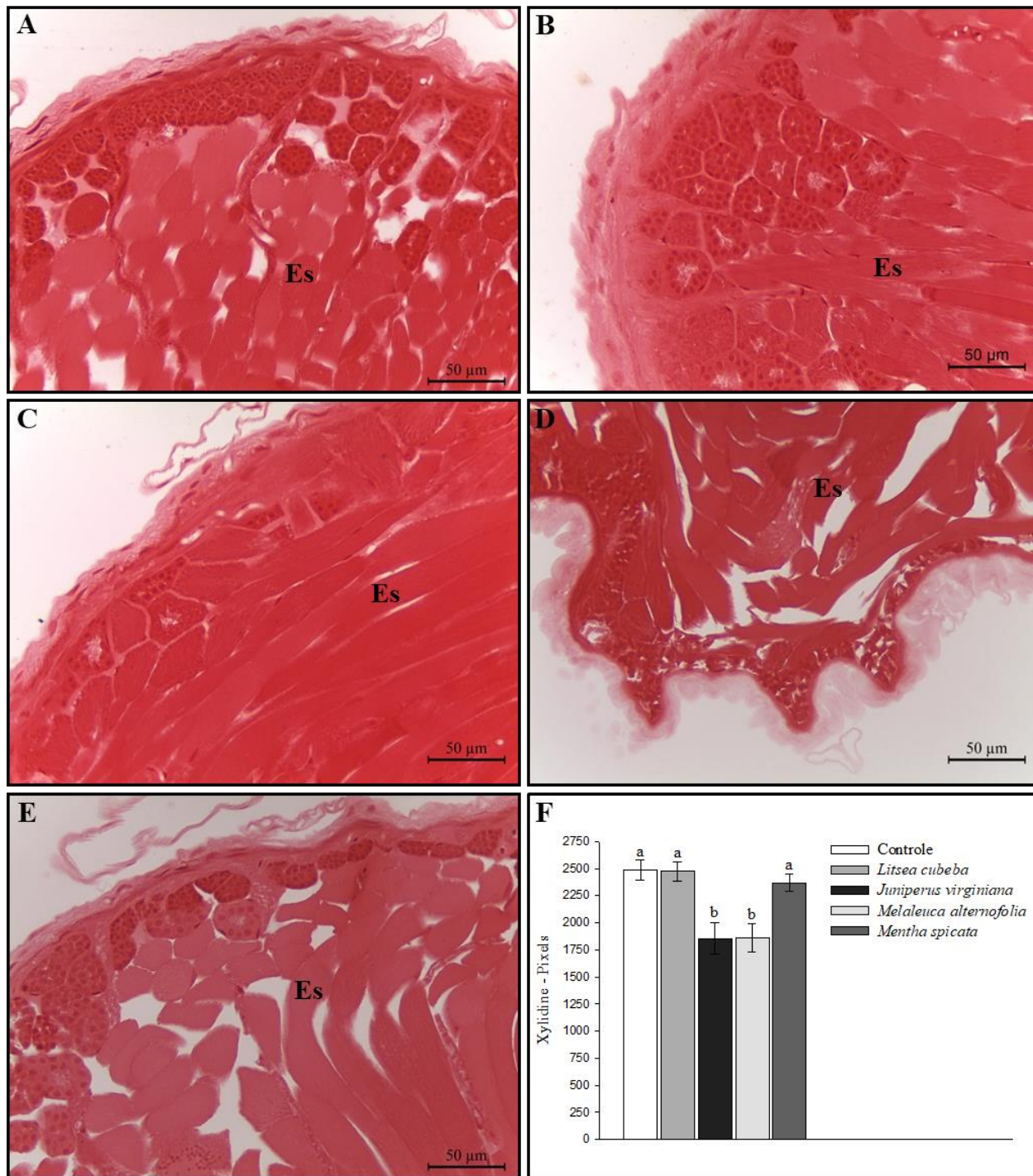


Figura 6. Histoquímica dos testículos de adultos de *Alabama argillacea*, cujas lagartas de terceiro instar foram tratadas, por contato tópico, com a Dose Letal 50 (DL₅₀) dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Juniperus virginiana*, *Melaleuca alternifolia* e *Mentha spicata*. A, controle. B, *L. cubeba*. C, *J. virginiana*. D, *M. alternifolia*. E, *M. spicata*. F, quantidade de pixels para proteínas totais (média ± EP). Coloração com Xylidine Ponceau. Barras seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância. (Es) espermatozoide.

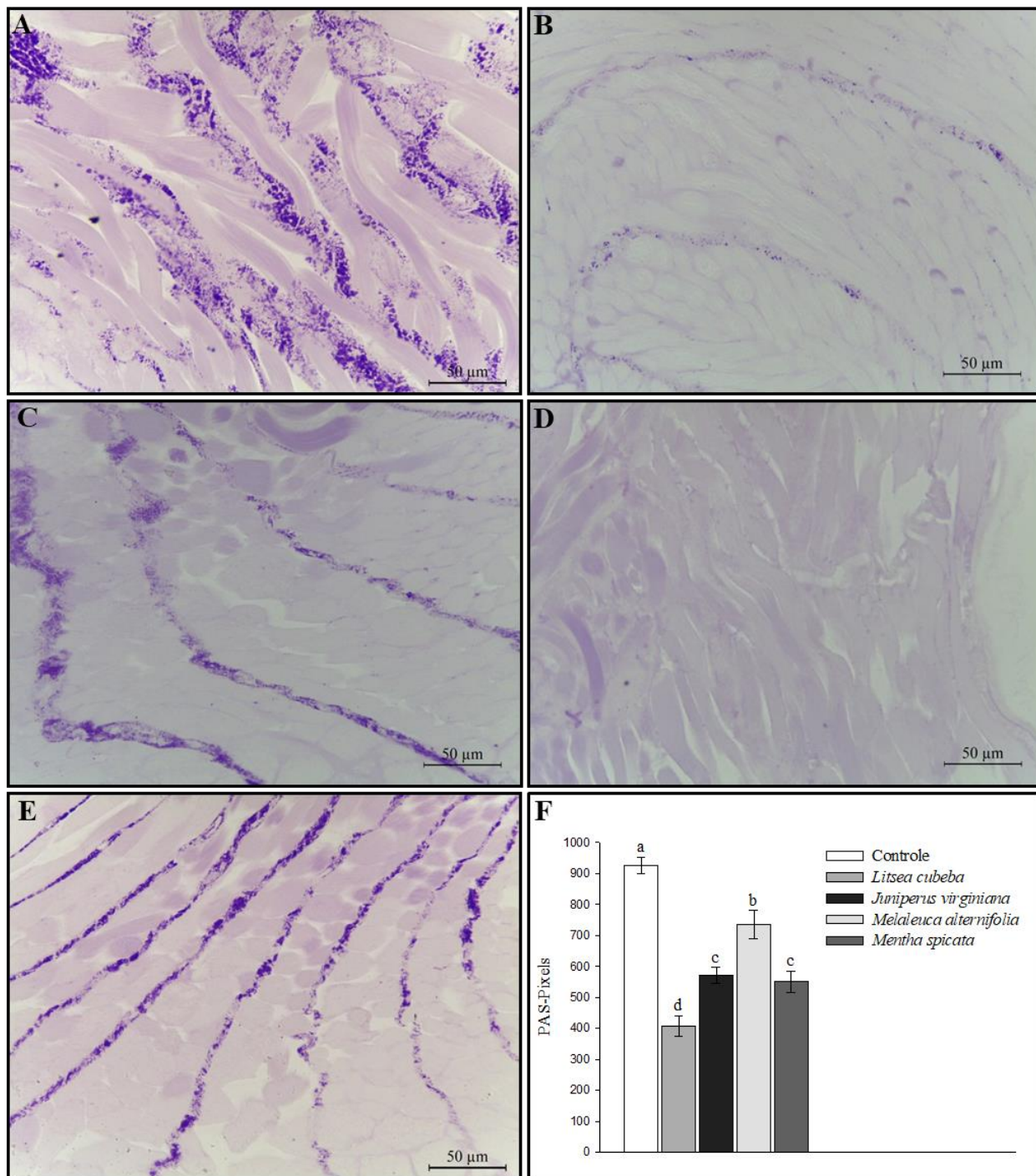


Figura 7. Histoquímica dos testículos de adultos de *Alabama argillacea*, cujas lagartas de terceiro ínstar foram tratadas, por contato tóxico, com a Dose Letal 50 (DL₅₀) dos óleos essenciais de *Litsea cubeba*, *Juniperus virginiana*, *Melaleuca alternifolia* e *Mentha spicata*. A, controle. B, *L. cubeba*. C, *J. virginiana*. D, *M. alternifolia*. E, *M. spicata*. F, quantidade de pixels para polissacarídeos neutros (média ± EP). Coloração com ácido periódico de Schiff (P.A.S.). Barras seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância. (Es) espermatozoide.

CAPÍTULO 5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As antenas de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) apresentam sete tipos de sensilas, sendo estas: sensilas trichodea, chaetica, auricillica, coeloconica, styloconica, basiconica e Böhm bristles. As sensilas podem apresentar variações morfométricas entre machos e fêmeas e entre as regiões proximal e distal das antenas.

Através das sensilas quimiorreceptoras, os insetos podem detectar substâncias químicas de plantas com ação atrativa ou repelente. Neste caso, os óleos essenciais podem apresentar efeitos no comportamento dos insetos, ocasionando principalmente atividades deterrentes. Este tipo de atividade foi observado para o óleo essencial de *Mentha spicata* L., no qual, apresentou uma deterrencia a oviposição sobre *A. argillacea*. Quando se fez o rastreio, através da técnica de Cromatografia gasosa acoplada à detecção eletroantenográfica, dos constituintes que podem estar envolvidos nesta atividade do óleo de *M. spicata*, três compostos provocaram uma despolarização das antenas das fêmeas de *A. argillacea*, sendo estes o limoneno, carvona e E-cariofileno. Nos biotestes com os três compostos, somente o limoneno provocou um ação deterrente a oviposição, indicando que a bioatividade apresentada pelo óleo de *M. spicata* a *A. argillacea*, pode se dar pela ação deste composto.

Além das atividades comportamentais observada nos óleos essenciais, estes compostos podem exercer toxicidade nos insetos, afetando o seu desenvolvimento e reprodução. Esta atividade tóxica foi observada em lagartas de terceiro instar de *A. argillacea*, quando estas foram submetidas, via contato tópico, aos óleos essenciais de *M. spicata*, *Litsea cubeba* (Lour.) Pers., *Melaleuca alternifolia* Cheel e *Juniperus virginiana* L. Além disso, estes óleos provocaram uma redução no

peso das lagartas e pupas, redução no número e viabilidade dos ovos e alterações na histoquímica dos testículos, sendo que *M. alternifolia*, *J. virginiana* e *M. spicata* afetaram a sua morfologia. Os ovariolos apresentaram uma redução nos teores de proteína quando os insetos foram tratados com o óleo de *L. cubeba*, *J. virginiana* e *M. alternifolia* e um aumento nos teores de polissacarídeos neutros quando os insetos foram tratados com *L. cubeba* e *M. alternifolia*.

Os óleos essenciais e compostos químicos são uma alternativa promissora para o controle de pragas, por apresentar bioatividade no comportamento dos insetos, bem como, por interferir no desenvolvimento e reprodução destes organismos. No caso da cotonicultura, esta forma de controle pode contribuir nos sistemas sustentáveis, como o cultivo orgânico, que ainda representa uma pequena parcela na produção dessa commodity, mas com expectativas de crescimento de mercado. Entretanto, é importante que mais estudos sejam feitos com óleos e seus compostos a nível de campo, bem como, em relação a formulações, afim de otimizar o uso destes produtos em condições de campo.